บทที่ 1

บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โรคมะเร็งเป็นปัญหาทางสาธารณสุขที่สำคัญของโลกรวมถึงประเทศไทย จากการทบทวนรายงานอุบัติการณ์ของโรคผู้ป่วยโรคมะเร็งในประเทศไทยของสถาบันมะเร็งแห่งชาติ พบว่าคนไทยเสียชีวิตจากโรคมะเร็งเป็นสาเหตุการตายอันดับ 1 มาตั้งแต่ พ.ศ. 2544 อุบัติการณ์ของโรคมะเร็งอยู่ในสถานการณ์ที่เลวร้ายลง จำนวนผู้ป่วยมีปริมาณสูงขึ้นทุกปี และเกิดในผู้ป่วยที่มีอายุน้อยลงเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นการศึกษาหาสาเหตุและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเกิดโรคมะเร็งโดยเฉพาะบทบาทของอาหารนั้น นับเป็นสิ่งสำคัญในการช่วยป้องกันมะเร็ง

อาหารถือว่ามีบทบาทที่สำคัญต่อสุขภาพ อันนอกเหนือจากการส่งเสริมการเจริญเติบโตของร่างกาย หลักฐานทางระบาดวิทยาระบุอย่างชัดเจนว่าอาหารมีความสัมพันธ์กับมะเร็งถึงร้อยละ 30-50 ในอาหารเองนั้นเป็นแหล่งรวมของสารที่มีฤทธิ์ต้านการเกิดอนุมูลอิสระ สารที่มีฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ สารที่มีฤทธิ์ต้านการก่อมะเร็ง และขณะเดียวกันมีโอกาสที่จะปนเปื้อนด้วยสารก่อกลายพันธุ์ สารก่อมะเร็ง สารส่งเสริมการก่อกลายพันธุ์/ก่อมะเร็ง สารก่อกลายพันธุ์ที่ปนเปื้อนมากับอาหารนั้นส่วนหนึ่งเกิดจากกรรมวิธีการปรุงอาหาร ซึ่งมีผู้วิจัยพบว่าอาหารเนื้อสัตว์ที่ปิ้งหรือย่างด้วยไฟแรง จะทำให้เกิดสารก่อมะเร็งหลายชนิด เช่น ไนโตรซามีน (nitrosamine) Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ที่เกิดจากการเผาไหม้ที่ไม่หมดของไขมันในเนื้อสัตว์ Heterocyclic aromatic amines (HAs) ที่เกิดจากการสลายตัวของโปรตีนและกรดอะมิโนขณะถูกความร้อนสูง เป็นต้น เนื้อสัตว์ที่ปิ้งย่างด้วยไฟแรง น้ำมันจะหยดลงไปบนถ่านทำให้น้ำมันแตกตัวแล้วเกิดปฏิกิริยากลายเป็น PAHs และลอยขึ้นมาเกาะอยู่บนอาหาร สาร PAHs มีหลายชนิด เช่น Benzo(a)pyrene, Benzo(a)anthracene ฯลฯ (ทรงศักดิ์, 2540) ซึ่งล้วนแต่เป็นสารก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง นอกจากนี้การปิ้งย่างเนื้อสัตว์โดยใช้ไฟแรงยังทำให้เกิดสาร glu-P-1, glu-P-2 ที่เกิดจากการเผาไหม้กรดอะมิโน glutamic สาร Phe-P-1, Orn-P-1 เกิดจากการเผาไหม้ของกรดอะมิโน phenylalanine, ornithine และสารก่อมะเร็งอีกกลุ่มหนึ่งที่เกิดจากการเผาไหม้ของสาร creatinine (สารที่พบในกล้ามเนื้อสัตว์) amino acid และน้ำตาล เช่น การย่างปลาซาดีน จะพบสาร IQ และ MeIQ สารก่อกลายพันธุ์ที่กล่าวมานี้มีฤทธิ์เป็นสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์และทำให้เกิดมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น ตับ กระเพาะอาหารส่วนต้น ปอด ลำไส้ และหลอดเลือดในสัตว์ทดลองได้ นักวิจัยของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของอเมริกา พบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมีความสัมพันธ์กับความถี่ในการบริโภคเนื้อสัตว์ปิ้งย่าง ส่วนมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งเต้านมมีความเกี่ยวข้องกับการบริโภคเนื้อสัตว์ปิ้งย่างที่ผ่านความร้อนเป็นเวลานานจนสุก (WHO, 2003)

ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตเนื้อสัตว์จำพวกไก่และสุกรได้ปริมาณสูงอย่างต่อเนื่อง สำหรับใช้บริโภคภายในประเทศและส่งออก อาหารไทยอย่างไก่ย่างนับเป็นอาหารยอดนิยมของคนไทย และติดอันดับ 1 จากการสำรวจประจำปี พ.ศ. 2552 (ทีมงาน toptenthailand) ไก่ย่างเป็นอาหารที่มีผู้ปรุงจำหน่ายในสถานที่ที่หลากหลาย ตั้งแต่ระดับรถเข็น แผงลอย ร้านอาหาร และภัตตาคาร เหมาะสำหรับการรับประทานในหลากหลายรูปแบบ เช่น อาหารจานหลัก อาหารว่าง หรือกับแกล้ม ซึ่งในแต่ละท้องที่

จะมีสูตรเฉพาะที่แตกต่างกันออกไป แต่ส่วนใหญ่มักจะนิยมทำให้หนังกรอบ เนื้อนุ่ม และมีความหอมจากเครื่องเทศ นอกจากนี้อาจมีการปรุงรสเพิ่มเติม เช่น ทาหรือหมักไก่ด้วยขมิ้น ไก่ย่างนมสด ไก่ย่างน้ำผึ้ง เป็นต้น ส่วนหมูย่าง (หรือหมูปิ้ง) ก็ถูกจัดเป็นอาหารจานด่วน ยอดนิยมของคนไทยทุกเพศทุกวัย (ตั้งแต่นักเรียน นักศึกษา และคนวัยทำงาน) โดยเฉพาะมื้ออาหารที่เร่งรีบในยามเช้า หรือช่วงที่มีเวลาจำกัดต้องรีบรับประทาน เนื่องจากเป็นอาหารที่ช่วยให้อิ่มท้องได้ในระยะเวลาอันรวดเร็ว เพราะมักจะรับประทานคู่กับข้าวเหนียว และที่สำคัญคือสะดวกในการซื้อหามารับประทาน เพราะแหล่งจัดจำหน่ายนั้นมีกระจายอยู่ทั่วไป เช่น ตามตลาด ตามท้องถนน ย่านโรงเรียน ย่านมหาวิทยาลัย ย่านสถานที่ทำงานต่าง ๆ เป็นต้น จึงนับได้ว่าอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ปิ้งย่างเหล่านี้ได้อยู่คู่กับวิถีชีวิตของผู้คนจำนวนมากมาเป็นเวลานาน ในกระบวนการปรุงสุกของเนื้อสัตว์ย่างนั้นมีผลทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ขึ้นหลายชนิด ได้แก่ สารกลุ่ม HAs ชนิด IQ-Type เช่น $MeIQ_x$ 4,8-$DiMeIQ_x$ PhIP ในปริมาณ 1.16 3.55 31.06 ng/g ตามลำดับ และชนิด Non IQ-Type เช่น Trp-P-1 Trp-P-2 AαC MeAαC ในปริมาณ 1.46 3.58 5.58 1.57 ng/g ตามลำดับ (Liao *et al*., 2010) นักวิจัยของสถาบันมะเร็งแห่งชาติของอเมริกา พบว่าผู้ป่วยที่เป็นมะเร็งกระเพาะอาหารมีความสัมพันธ์กับความถี่ในการบริโภคเนื้อสัตว์ปิ้งย่าง ส่วนมะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งตับอ่อน และมะเร็งเต้านมมีความเกี่ยวข้องกับความถี่ในการบริโภคเนื้อสัตว์ปิ้งย่างหรือทอดที่ผ่านความร้อนเป็นเวลานานจนสุก การวิจัยได้แสดงให้เห็นว่าการปรุงอาหารเนื้อสัตว์ที่อุณหภูมิสูงด้วยการปิ้งย่าง จะทำให้เกิดสารเคมีจำพวก HAs ที่เดิมไม่ได้อยู่ในเนื้อสัตว์ดิบมาก่อน แต่เกิดขึ้นจากการรวมตัวของ กรดอะมิโน และ creatine (อยู่ในกล้ามเนื้อของสัตว์) ทำปฏิกิริยากัน ณ อุณหภูมิสูง ทำให้สารเคมีที่มีความเป็นพิษปรากฏขึ้นและมีจำนวนมากกว่า 20 ชนิดที่อาจก่อให้เกิดความเสี่ยงของมะเร็งในคน

ปริมาณ HAs ที่เกิดขึ้นในกระบวนการปรุงเนื้อสัตว์นั้นมีความแปรปรวนไปตามปัจจัยที่ส่งเสริมให้เกิด เช่น วิธีการปรุง อุณหภูมิ ระยะเวลาที่ใช้ปรุง ชนิดของเนื้อสัตว์ ปริมาณน้ำในเนื้อสัตว์ และปริมาณครีทีนีนในเนื้อสัตว์ เป็นต้น การหมักเนื้อสัตว์ก่อนย่างมีส่วนสำคัญต่อรสชาติของอาหารและยังช่วยปรับปรุงสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัสให้มีความอร่อยและน่ารับประทานมากขึ้น องค์ประกอบในเครื่องปรุงสำหรับหมักไก่โดยทั่วไปจะประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ๆ ได้แก่ส่วนผสมที่ช่วยชูรส เช่น เกลือ น้ำตาล น้ำปลา ซีอิ๊วขาว ซอสถั่วเหลืองปรุงรส เป็นต้น และส่วนผสมที่ช่วยชูกลิ่น เช่น พริกไทย รากผักชี กระเทียม หอมแดง ตะไคร้ ขมิ้น เป็นต้น ขึ้นอยู่กับการดัดแปลงผสมเครื่องปรุงต่าง ๆ ตามลักษณะของรสชาติที่ถูกปากของผู้คนแต่ละพื้นที่ ซึ่งจะมีสูตรเฉพาะแตกต่างกันออกไป มีงานวิจัยหลายงานแสดงให้เห็นว่าการหมักเนื้อสัตว์ก่อนการนำไปปรุงมีส่วนช่วยทำให้ปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ลดลง เช่น น้ำมันมะกอก (Persson *et al*., 2003) กระเทียม (Murkovic *et al*., 1998) ชาเขียว (Weisburger *et al*., 1994; Weisburger *et al*., 2002) ไวน์แดง (Busquets *et al*., 2006) เป็นต้น ส่วนผสมที่ใช้ในการหมักช่วยต้านการก่อตัวเป็น HAs ในเนื้อสัตว์ที่ผ่านการปรุงสุกอย่างเห็นได้ชัดเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ที่ไม่ผ่านการหมัก นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยหลายเรื่องที่พบว่าสารสกัดจากวัตถุดิบที่ใช้ในอาหารไทย เช่น กระเทียม ขิง กะเพรา ข่า ตะไคร้ ใบมะกรูด ผิวมะกรูด หัวหอม พริกขี้หนู เป็นต้น มีศักยภาพในการต้านการก่อกลายพันธุ์ และต้านการก่อมะเร็งทั้งการศึกษาในหลอดทดลองและในสัตว์ทดลอง (Nakahara *et al*., 2002; Murakami *et al*., 1995) แต่มีงานวิจัยจำนวนน้อยที่ทำในอาหารที่ปรุงสุกแล้ว

ดังนั้นเพื่อเป็นการสนับสนุนอาหารไทย คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทดสอบหาฤทธิ์ของสมุนไพรบางตัวที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องปรุงสำหรับหมักเนื้อสัตว์ ที่สามารถช่วยลดการก่อตัวของสารก่อกลายพันธุ์ในขณะปิ้งย่าง ตลอดจนสามารถลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ย่างให้ต่ำลง เพื่อเป็น

ข้อมูลสำหรับผู้บริโภคชาวไทยและชาวต่างชาติได้ใช้ประโยชน์สำหรับการปรุงอาหารประเภทปิ้งย่าง และเป็นแนวทางการประกอบอาหารจำพวกปิ้งย่างให้มีความปลอดภัยและมีความเสี่ยงต่อสารก่อกลายพันธุ์/สารก่อมะเร็งลดลง นอกจากนี้ยังเป็นข้อมูลพื้นฐานที่ผู้ประกอบการอาหารไทยสามารถนำไปต่อยอดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องปรุงสำหรับหมักเนื้อสัตว์ที่ช่วยลดความเสี่ยงต่อสารก่อมะเร็งได้

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. ศึกษาผลของสมุนไพรที่ใช้ในการหมักเนื้อสัตว์ ได้แก่ ไก่ย่าง หมูย่าง ต่อปริมาณสารก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์
2. ศึกษาการตอบสนองร่วมกัน (ส่งเสริมฤทธิ์กัน/ หักล้างฤทธิ์กัน) ของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดที่ใช้หมักที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างและหมูย่าง

ขอบเขตของการวิจัย

ตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์จากอาหารไทยประเภทเนื้อสัตว์ปิ้งย่าง ได้แก่ ไก่ย่าง และหมูย่าง รวมถึงวิเคราะห์ปริมาณสารก่อกลายพันธุ์จำพวก PAHs และ HAs ที่ปนเปื้อนอยู่ในเนื้อสัตว์ปิ้งย่างอันเป็นสาเหตุของการกลายพันธุ์ ในตัวอย่างไก่ย่าง และหมูย่างที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงในงานวิจัยนี้ และตลอดจนศึกษาวิธีที่สามารถช่วยลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการปรุงสุกของไก่ย่างและหมูย่าง โดยการตรวจวัดผลของสมุนไพร 3 ชนิดที่เป็นส่วนผสมในเครื่องหมักไก่ที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างและหมูย่าง และผลของการตอบสนองร่วมกันของสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดที่อาจมีฤทธิ์ในทางส่งเสริมหรือหักล้างกันในการทำให้เกิดสารก่อกลายพันธุ์ขึ้นในช่วงกระบวนการปรุงสุก

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ชนิดของสมุนไพรในน้ำหมักไก่ย่างและหมูย่าง ที่สามารถลดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เผยแพร่สู่ผู้ประกอบการร้านอาหาร ประชาชน เพื่อนำไปใช้ประโยชน์
2. พัฒนาตำรับน้ำหมักไก่ย่างและหมูย่าง ที่มีคุณสมบัติลดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์กลุ่มเป้าหมายผู้ประกอบการร้านอาหาร
3. ผลการวิจัยนำไปใช้ประโยชน์เผยแพร่ในด้านการป้องกันและลดความเสี่ยงจากการบริโภคสารก่อมะเร็งในอาหารปิ้ง ย่าง กลุ่มเป้าหมายได้แก่ สถาบันการศึกษา หน่วยงานทางสาธารณสุข และการแพทย์ ประชาชนทั่วไป
4. ตีพิมพ์ผลงานวิจัยในวารสารและการเสนอผลงานในการประชุมวิชาการระดับชาติ หรือนานาชาติ

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (Information) ที่เกี่ยวข้อง

สารกลุ่ม HAs ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Sugimura *et al.*, 1977 และต่อมามีรายงานว่าสารในกลุ่มนี้จำนวนมากกว่า 20 ชนิดที่เกิดจากเนื้อสัตว์ปรุงสุกผ่านความร้อนสูง (Felton *et al.*, 2000) การศึกษาสัตว์ในสัตว์ทดลองเป็นสิ่งที่ช่วยยืนยันให้เห็นว่า HAs มีศักยภาพเป็นสารก่อมะเร็งและก่อให้เกิดเนื้องอกในอวัยวะต่างๆ (Nagao, 1999; Nagao and Sugimura, 2000) องค์กร International Agency for Research on Cancer (IARC) องค์การอนามัยโลก และ Environmental Protection Agency (EPA) รายงานว่า สารเคมีที่พบในอาหารปิ้งย่าง ได้แก่ 2-Amino-3-4-dimethyl-imidazo[4,5-F]quinoline (MeIQ), 2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-F]quinoxaline (MeIQx), PhIP, 2-Amino-9H-pyrido [2,3 b]indole (AAC), 2-Amino-3-methyl-9H-pyrido[2,3-b]indole (MeAaC), 3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (trp-P-1), 3-Amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole (trp-P-2) และ 2-Amino-6 methyldipyrido[1,2-:3',2'-d']imidazole (glu-P-1) ถูกจัดเป็นสารก่อมะเร็งประเภท 2B class (ไม่มีหลักฐานว่าก่อมะเร็งในมนุษย์แต่มีหลักฐานว่าก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง) ส่วน 2-Amino-3-methylimidazo[4, 5-F]quinoline (IQ) เป็นสารก่อมะเร็งประเภท 2A class (มีหลักฐานทางระบาดวิทยาที่บ่งชี้ว่าก่อมะเร็งในมนุษย์และมีหลักฐานยืนยันว่าก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง) กลไกที่สำคัญที่ทำให้เกิดสารเหล่านี้ คือกรดอะมิโนที่อยู่ในเนื้อสัตว์, creatine ในกล้ามเนื้อสัตว์, อุณหภูมิการปรุงที่สูงและน้ำตาล (Felton and Knize, 1990; Jägerstad *et al.*, 1983.) ความหลากหลายของชนิดและปริมาณของ HAs ในผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ที่ปรุงสุกขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น ชนิดของอาหาร วิธีการปรุง กรรมวิธีการหมัก

Tikkanen *et al.* (1996) รายงานว่า ไก่ที่ย่างด้วยเตาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 110 °ซ นาน 110 นาที ไม่พบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Ames แต่อุณหภูมิการย่าง 220 °ซ นาน 40 นาที ทำให้มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงสุด และฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ลดลงเมื่อหมักด้วยเครื่องปรุงสูตร B ซึ่งประกอบด้วย tomato puree น้ำมัน rapeseed พริก cayenne paprika ซอสถั่วเหลือง น้ำตาล มัสตาร์ด น้ำส้มสายชู เกลือ ไวน์แดง พริกไทยขาว โซเดียมเบนโซเอท protein hydrolysate และ BHA ในปีต่อมา Wu *et al.* (1997) ระบุว่าสะเต๊ะไก่ที่ปรุงสุกด้วยวิธีของมาเลย์ มีปริมาณ heterocyclic amine (HA) ได้แก่สาร Trp-P-2 Harman AαC PhIP และ IQ เท่ากับ 78 84 12 12 และ 7.8 ppb ตามลำดับ แต่ไม่พบสาร Trp-P-1 glu-P-2 และ Norharman (NH) ซึ่งแตกต่างจากในสะเต๊ะไก่ที่ปรุงสุกด้วยวิธีของจีนที่มี Trp-P-2 Harman (H) AαC และTrp-P-1 เท่ากับ 9 7.6 3.1 และ 0.4 ppb ตามลำดับ ไม่พบ heterocyclic amine ชนิด PhIP IQ glu-P-2 และ Norharman และในปีเดียวกันนั้น Salmon *et al.* (1997) รายงานว่าเนื้อส่วนอกไก่ที่หมักและย่างด้วยเตาแก๊สที่ใช้ propane เป็นเชื้อเพลิง มีปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ PhIP ลดลง 92-99% ขณะที่สาร MeIQx เพิ่มขึ้นมากกว่า 10 เท่า จากตัวอย่างที่ไม่ได้หมักก่อนย่าง นอกจากนี้ Jo *et al.* (2008) ตรวจสอบปริมาณ HA ในอาหารเกาหลีประเภทเนื้อสัตว์หลายชนิด พบสาร MeIQx MeAαC PhIP H และ NH ในปริมาณ 6.87-14.7 3.62-15.6 9.30-63.2 27.0-50.0 และ 18.0-103 นาโนกรัม/ กรัม ตามลำดับ ในไก่ที่ย่างด้วยเตาถ่าน ส่วนไก่ที่ย่างด้วยเตาไฟฟ้า พบสาร MeAαC PhIP H NH และ AαC ในปริมาณ 8.4-12.2 13.5-66.1 23.9-92.3 21.5-261 และ 17.3-58 นาโนกรัม/ กรัม

ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ HAs แต่ละชนิดมีความแปรปรวนค่อนข้างสูงซึ่งอาจเกิดจากวิธีปรุงอาหาร

อนงค์และวรรณี (2544) เก็บตัวอย่างอาหารปิ้งย่างในเขตกรุงเทพมหานครและปริมณฑล จำนวน 24 ชนิด 105 ตัวอย่าง มาตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ โดยวิธี Ames Test โดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 และ Yg1024 ในระบบกระตุ้นการออกฤทธิ์ด้วยเอนไซม์ S-9mix พบว่า ทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ต่อแบคทีเรียสายพันธุ์ Yg1024 สูงกว่าสายพันธุ์ TA98 มีค่าเฉลี่ย 74.5 $\pm$ 18.8 และ 2,111.7 $\pm$ 379.3 revertants ต่อน้ำหนักอาหาร (กรัม) ซึ่งในไก่ หมู เนื้อ และปลามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงกว่ากุ้ง ปลาหมึก ไส้กรอก และลูกชิ้น และส่วนที่ไหม้เกรียมมีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงกว่าเนื้อด้านใน 5.7 - 11.6 เท่า จันทร์เพ็ญและอภิญญา (2554) ได้ศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของไก่ย่างที่เตรียมจากสูตรวิเชียรบุรี พบว่า ไก่ย่างที่หมักด้วยเครื่องเทศและเครื่องปรุงรสมีผลทำให้แบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA98 กลายพันธุ์ได้มากกว่ากลุ่มควบคุม ซึ่งคาดว่าจะเป็นผลมาจากซอสถั่วเหลืองที่ทำปฏิกิริยากับ creatinine และน้ำตาล นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่รายงานว่าพืชผักและเครื่องเทศหลายชนิดเมื่อนำมาเป็นส่วนผสมในการหมักเนื้อสัตว์ก่อนปรุงผ่านความร้อนจะมีส่วนช่วยลดปริมาณและฤทธิ์ของสารก่อกลายพันธุ์ เช่น สารสกัดโรสแมรี่สามารถลดการก่อตัวของ HA ในผลิตภัณฑ์เนื้อสเต็กบดปรุงสุกที่อุณหภูมิ 191 °ซ (375 °ฟ) เป็นเวลา 6 นาทีต่อด้าน และ 204 °ซ (400 °ฟ) เป็นเวลา 5 นาทีในแต่ละด้าน โดยพบว่า ปริมาณสาร MeIQx และ PhIP ของเนื้อสเต็กที่ผ่านการหมักด้วยสารสกัดจากโรสแมรี่ (20% ในตัวทำละลายเอทานอล) ลดลงสูงสุดถึง 91.7 % และ 85.3 % ตามลำดับ ซึ่งผลการทดสอบนี้ยังสอดคล้องกับปริมาณกรด rosmarinic, carnosol และกรด carnosic ที่อยู่ในสารสกัดดังกล่าวที่น่าจะมีส่วนช่วยลดการฟอร์มตัวของสารก่อกลายพันธุ์ (Puangsombat and Smith, 2010) การหมักด้วยเบียร์หรือไวน์แดงในสเต็กเนื้อวัวเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก็มีผลช่วยให้การเกิด HA ขณะทำการทอดลดลง โดยปริมาณสาร MeIQx และ PhIP ลดลงไป 40 และ 88 % ตามลำดับ (Armindo *et al*., 2008) การหมักด้วยชาเขียวในสเต็กเนื้อวัว มีผลช่วยทำให้ปริมาณ PhIP ในเนื้อทอดลดลง 75% (Quelhas *et al*., 2010)

บทที่ 3

การดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียมตัวอย่างเนื้อสัตว์ย่าง

ตัวอย่างเนื้อสัตว์ที่ถูกเลือกมาทดสอบในงานวิจัยนี้ใช้ผลิตภัณฑ์จากบริษัทซีพี ที่จำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป ได้แก่ เนื้อไก่ และเนื้อหมู สำหรับเนื้อไก่ใช้ส่วนอก (น้ำหนักต่อชิ้นโดยเฉลี่ย 200-230 g และมีความหนา 1.5-2 เซนติเมตร) ส่วนเนื้อหมูใช้ส่วนสันคอ (น้ำหนักต่อชิ้นโดยเฉลี่ย 200-230 g ความหนา 1.5 –1.8 เซนติเมตร) เนื้อสัตว์ที่เตรียมได้ที่แล้วจะถูกย่างด้วยเตาถ่านที่มีการควบคุมอุณหภูมิขณะย่าง (ถ่านที่ใช้ย่างเป็นถ่านไม้โกงกาง อุณหภูมิบริเวณตะแกรงย่างอยู่ในช่วง 160-225 ^{o}ซ ใช้ขี้เถ้ากลบถ่านเมื่อต้องการลดอุณหภูมิในขณะย่าง) ระยะห่างระหว่างถ่านกับตะแกรง 25 เซนติเมตร พลิกกลับชิ้นเนื้อขณะย่างทุก ๆ 3 นาที ระยะเวลาที่ใช้ในการย่างเนื้อสัตว์แต่ละชิ้นโดยเฉลี่ย 25-30 นาที

แบ่งกลุ่มตัวอย่างเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่

ก.กลุ่มควบคุม เนื้อสัตว์ย่าง (เนื้อไก่ เนื้อหมู) ที่ไม่หมักด้วยเครื่องปรุงรสและพืชปรุงแต่งกลิ่นใด ๆ

ข.กลุ่มทดลองชุดที่ 1 เนื้อสัตว์ย่าง (เนื้อไก่ เนื้อหมู) ที่หมักด้วยเครื่องปรุงรส ได้แก่ ซีอิ๊วขาว 15 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัม ผงชูรส 2 กรัม และเกลือ 2 กรัม ต่อเนื้อสด 200 กรัม

ค.กลุ่มทดลองชุดที่ 2 เนื้อสัตว์ย่าง (เนื้อไก่ เนื้อหมู) ที่หมักด้วยสมุนไพรทีละชนิด ได้แก่ รากผักชี ตะไคร้ และขมิ้นชัน ซึ่งก่อนที่จะนำสมุนไพรมาใช้ในการหมักนั้นสมุนไพรจะถูกสกัดด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์ และปริมาณในการผสมจะเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสมุนไพรต่อน้ำหนักเนื้อสัตว์สด (w/w) ดูส่วนผสมของเครื่องที่ใช้หมักในตารางที่ 1

ง.กลุ่มทดลองชุดที่ 3 เนื้อสัตว์ย่าง (เนื้อไก่ เนื้อหมู) ที่หมักด้วยเครื่องปรุงรส ได้แก่ ซีอิ๊วขาว น้ำตาลทราย ร่วมกับพืชปรุงแต่งกลิ่น ได้แก่ รากผักชี ตะไคร้ และขมิ้นชัน ทีละชนิด ซึ่งก่อนที่จะนำสมุนไพรมาใช้ในการหมักนั้นสมุนไพรจะถูกสกัดด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์ และปริมาณในการผสมจะเทียบเป็นเปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสมุนไพรต่อน้ำหนักเนื้อสัตว์สด (w/w) ดูส่วนผสมของเครื่องที่ใช้หมักในตารางที่ 2

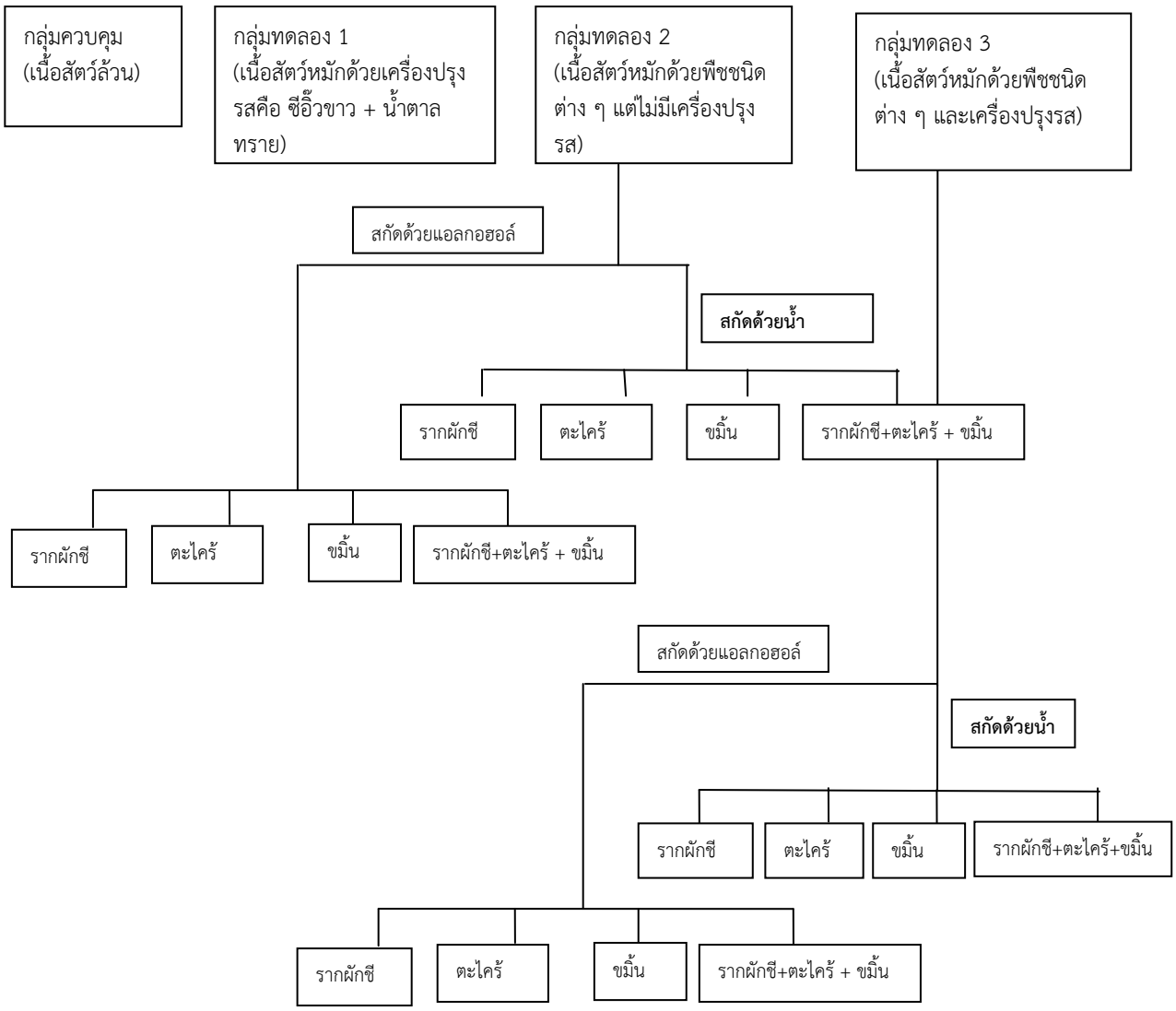
กลุ่มทดลอง ข. - ง. เนื้อสัตว์และส่วนผสมจะถูกคลุกเคล้าจนเข้ากัน ใส่ในภาชนะ คลุมด้วยฟิล์มห่ออาหาร และหมักต่อ ณ อุณหภูมิ 4 ^{o}ซ ภายในตู้เย็น เป็นเวลา 14 ชั่วโมง

ตารางที่ 1 รายละเอียดและส่วนผสมที่ใช้หมักเนื้อสัตว์ของกลุ่มทดลองชุดที่ 2

ชนิดเนื้อสัตว์	ส่วนสกัด	ส่วนผสมที่ใช้หมัก
เนื้อไก่ (200 g)	น้ำ	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม น้ำเปล่า 20 มิลลิลิตร
	แอลกอฮอล์ (เกรดอาหาร)	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม แอลกอฮอล์ (20%) 20 มิลลิลิตร
เนื้อหมู (200 g)	น้ำ	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม น้ำเปล่า 20 มิลลิลิตร
	แอลกอฮอล์ (เกรดอาหาร)	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม แอลกอฮอล์ (20 %) 20 มิลลิลิตร

ตารางที่ 2 รายละเอียดและส่วนผสมที่ใช้หมักเนื้อสัตว์ของกลุ่มทดลองชุดที่ 3

ชนิดเนื้อสัตว์	ส่วนสกัด	ส่วนผสมที่ใช้หมัก
เนื้อไก่ (200 g)	น้ำ	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม ซีอิ๊วขาว 15 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัม ผงชูรส 2 กรัม เกลือ 2 กรัม น้ำเปล่า 5 มิลลิลิตร
	แอลกอฮอล์ (เกรดอาหาร)	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม ซีอิ๊วขาว 15 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัม ผงชูรส 2 กรัม เกลือ 2 กรัม แอลกอฮอล์ (80%) 5 มิลลิลิตร
เนื้อหมู (200 g)	น้ำ	สมุนไพร (รากผักชี หรือตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม ซีอิ๊วขาว 15 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัม ผงชูรส 2 g เกลือ 2 กรัม น้ำเปล่า 5 มิลลิลิตร
	แอลกอฮอล์ (เกรดอาหาร)	สมุนไพร (รากผักชี หรือ ตะไคร้ หรือขมิ้นชัน หรือสูตรรวม 3 ชนิด) 20 กรัม ซีอิ๊วขาว 15 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 10 กรัม ผงชูรส 2 กรัม เกลือ 2 กรัม แอลกอฮอล์ (80%) 5 มิลลิลิตร



ภาพที่ 1 แผนผังการเตรียมตัวอย่างเนื้อสัตว์ย่าง

3.2 การเตรียมตัวอย่างสารสกัดเนื้อสัตว์ย่างเพื่อการตรวจสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์

นำตัวอย่างมาสกัดโดยวิธีของ Overvick *et al*. (1987) โดยชั่งตัวอย่าง 50 กรัม มาปั่นละเอียดด้วยเครื่องบดอาหาร ทำการสกัดด้วยตัวทำละลาย ซึ่งประกอบด้วยคลอโรฟอร์ม 125 มิลลิลิตร และเมทานอล 125 มิลลิลิตร 2 ครั้ง รวบรวมสารสกัดที่ได้ จากนั้นเติมเมทานอล 250 มิลลิลิตร ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายนี้ 2 ครั้ง สารสกัดที่ได้ทั้งหมดนำมารวมกันเก็บไว้ในตู้เย็น (-4 °ซ) เป็นเวลา 1 คืน นำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman no.4 นำส่วนสกัดที่ได้ไประเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator สารสกัดเข้มข้นที่ได้นำมาเติม 70 % เอทานอล (ที่ถูกปรับด้วย 1 N ไฮโดรคลอริกให้มีค่า pH = 2) โดยใช้ปริมาณเอทานอล 5 มิลลิลิตร ต่อ 1 กรัมสารสกัดแห้ง กำจัดไขมันที่ปนเปื้อนมากับสารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ โดยใช้ปริมาตรเดียวกันกับเอทานอล ทำ 3 ครั้ง นำส่วนของเอทานอลมาปรับค่า pH ด้วย 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์ ให้อยู่ในช่วง 10-12 จากนั้นเติมไดคลอโรมีเทน ปริมาตรเท่ากับสารละลายที่ได้ เขย่า และตั้งทิ้งไว้ 5 ชั่วโมง ทำเช่นนี้ 3 ครั้ง รวบรวมส่วนของไดคลอโรมีเทนมาทำการระเหยแห้ง ด้วยเครื่อง rotary evaporator นำส่วน

สกัดที่ได้มาละลายใน dimethylsulfoxide (DMSO) เพื่อปรับความเข้มข้นตามที่ต้องการ ก่อนนำไปทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ เก็บรักษาไว้ในช่องแช่แข็ง -20 °ซ

3.3 การทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของเนื้อสัตว์ย่างโดยวิธีทดสอบ Ames test

3.3.1 การเพาะเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในวิธี Ames test

ในการเลี้ยงเชื้อ *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ศึกษา คือ TA 98 และTA100 อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย 2 ส่วนคือ 1) agar plate (minimal agar) ประกอบด้วย 30 มิลลิลิตร ของ minimal glucose agar medium ซึ่งประกอบด้วย 1.5% Bacto-Difco agar + 2 % glucose ใน Vogel-Bonner medium E (ซึ่งมีองค์ประกอบต่อ 1 ลิตร ดังนี้ คือ น้ำกลั่น 670 มิลลิลิตร, magnesium sulfate 10 กรัม, citric acid monohydrate 100 กรัม, potassium phosphate, dibasic 500 กรัม และ sodium ammonium phosphate 175 กรัม) 2) top agar plate เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วย 0.6 % agar และ NaCl 0.5 % ละลายน้ำ ซึ่งเมื่อนำไปฆ่าเชื้อแล้วเก็บที่อุณหภูมิห้องในขวดจุกเกลียว ก่อนใช้นำมาหลอมเหลวด้วยน้ำเดือดและเติม 10 มิลลิลิตร ของ sterile 0.5 M L-histidine.HCl/ 0.5 mM biotin ต่อ 100 มิลลิลิตรของ top agar

3.3.2 วิธีทดสอบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ โดยใช้ Ames test

จากวิธีการที่อธิบายโดย Maron และ Ames (1983) นั้น โดยสรุปแล้วคือการนำตัวอย่างที่พร้อมทดสอบ (25-100 ไมโครลิตร) ผสมกับ phosphate buffer pH 7.4 ที่ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร 0.1 มิลลิลิตร ของเชื้อแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* ที่เลี้ยงในอาหารที่เตรียมใหม่นาน 1 คืน เขย่าในอ่างน้ำอุ่นที่อุณหภูมิ 37°ซ นาน 20 นาที (วิธีนี้เรียกว่า pre-incubation test ซึ่งมีส่วนช่วยกระตุ้นให้แบคทีเรียได้รับการสัมผัสกับสารเคมี/ สารพิษได้ดีขึ้น) และใส่ top agar 2 มิลลิลิตร (อุณหภูมิ 45 °ซ) ซึ่งมี histidine และ biotin ผสมอยู่แล้วในปริมาณที่ทำให้เชื้อแบ่งตัวได้เพียง 1 ถึง 2 ครั้งแล้วเทลงใน agar plate ที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°ซ นาน 48 ชั่วโมง จึงนำมาตรวจนับ colony ที่เจริญขึ้นใน plate ในแต่ละ treatment จะทำ 3 ซ้ำ เพื่อหาค่าเฉลี่ย

ในการศึกษาทุกครั้งจะต้องตรวจดูว่าตัวอย่างสมุนไพรที่ใช้ศึกษามีคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (bactericidal activity) หรือไม่ โดยการสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์ ปกติจะมีลักษณะของเชื้อขึ้นเป็นจุดขาวเล็กๆ คล้ายฝุ่นชอล์ค ซึ่งเป็นการเจริญของเชื้อ เนื่องจากฮีสติดีนปริมาณเล็กน้อย ซึ่งจะหมดไปอย่างรวดเร็ว จากนั้นถ้าเชื้อมีการกลายพันธุ์ไปเป็น wild type เชื้อจะขึ้นเป็น colony เห็นเป็นจุดสีขาวใหญ่ ประมาณหัวเข็มหมุด (เมื่อเวลาผ่านไป 48 ชั่วโมง) ในกรณีที่สมุนไพรมีฤทธิ์ฆ่าแบคทีเรียจะต้องลดขนาดของสมุนไพรลงแล้วทดสอบซ้ำ

สรุปการทดสอบฤทธิ์กลายพันธุ์ ทำได้โดยการเติมตัวอย่างสารสกัดรวมกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ถ้าสารสกัดมีคุณสมบัติครบทั้ง 3 ข้อ ต่อไปนี้จึงถือว่ามีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ คือ 1) ต้องมีความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารที่ทดสอบกับจำนวน colony ที่เจริญขึ้นว่าเป็น dose response relationship คือเมื่อความเข้มข้นของสารเพิ่มขึ้นจะพบว่าจำนวน colony เพิ่มขึ้นด้วย 2) ตัวอย่างมีอย่างน้อย 2 ความเข้มข้นที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียกลายพันธุ์มีจำนวนมากกว่าจำนวนที่กลายพันธุ์ตามธรรมชาติ

3) ต้องมีอย่างน้อย 1 ความเข้มข้นที่ทำให้จำนวนแบคทีเรียกลายพันธุ์ มากกว่า 2 เท่า ของการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ

3.4 การเตรียมตัวอย่างเพื่อการวัดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์

3.4.1 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวัดปริมาณ Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAH) ทั้งหมด

ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ผสมกับ n-Hexane 25 มิลลิลิตร นำไปปั่นในโถปั่น เป็นเวลา 2 นาที 3 ครั้ง แล้วนำไปผ่านคลื่นเสียงความถี่สูงเพื่อสกัดสารที่ต้องการให้ละลายออกมาผสมกับตัวทำละลาย โดยใช้เครื่อง sonicator เป็นเวลา 2 ชั่วโมง กรองผ่านกระดาษกรองแล้วล้างด้วย n-Hexane 15 มิลลิลิตร นำ filtrate ที่กรองได้ไประเหยด้วย rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 40 °ซ เจือจางสารที่ระเหยด้วย n-Hexane 2 มิลลิลิตร แล้วจึงโหลดใส่คอลัมน์ แล้วจึงนำสารตัวอย่างที่เจือจางด้วย n-Hexane 2 มิลลิลิตร มาโหลดใส่คอลัมน์โดยใช้สารละลายผสมของ n-Hexane และ Dichloromethane (70: 30) 20 มิลลิลิตร เป็นตัวชะล้างออกมา ในการเก็บสารละลายนั้นทำโดยการทิ้งสารละลาย 3 มิลลิลิตร แรกไปก่อนหลังจากนั้นจึงเริ่มเก็บสารละลายที่เหลือ นำไประเหยด้วยเครื่อง rotary evaporator และปรับปริมาตรด้วย acetonitrile นำไปตรวจหาปริมาณ PAHs ด้วยเครื่อง HPLC ใช้ EPA 8310 method. Conditions: gradient elution (A= water, B = acetonitrile; 50-100% B: 0-25 min, 100% B: 25-50 นาที)

3.4.2 การเตรียมตัวอย่างสำหรับการวัดปริมาณ Heterocyclic Amines (HAs)

ชั่งตัวอย่างมา 15 กรัม เติมน้ำ 25 มิลลิลิตร และ methanol 50 มิลลิลิตร นำไปเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาทีเพื่อสกัดโปรตีนออกจากสารตัวอย่าง เก็บส่วนใสไว้ และเอาส่วนตะกอนมาเติมน้ำ 25 มิลลิลิตร และ methanol 50 มิลลิลิตร นำไปเหวี่ยงเป็นเวลา 10 นาที อีกครั้ง สารละลายที่ได้จากการเหวี่ยงทั้ง 2 ครั้งมารวมกันและ นำไประเหยด้วย rotary evaporation at 37 °ซ ให้เหลือปริมาตรประมาณ 20 มิลลิลิตร ปรับ pH ของสารละลายให้เป็น 8.5 ด้วย 1M NaOH หลังจากนั้น นำไปผ่านคอลัมน์ Amberlite XAD-2 resin (ซึ่งล้างด้วย acetone, methanol, น้ำ ตามลำดับก่อนลงตัวอย่าง) นำสารละลายที่ได้ซึ่งมี heterocyclic amine อยู่จะถูก absorbed บนคอลัมน์ ด้วย flow rate 2 มิลลิลิตร/นาที และล้างคอลัมน์ด้วยน้ำ 30 มิลลิลิตร heterocyclic amine จะถูกชะออกมาจากคอลัมน์โดยการล้างด้วย acetone 30 มิลลิลิตร ตามด้วย methanol 30 มิลลิลิตร รวม organic solvent ทั้งสองเข้าด้วยกันและนำไประเหยด้วย rotary evaporation จนแห้ง เติมน้ำลงไป 20 มิลลิลิตร เพื่อละลายและปรับ pH ไปที่ pH 2 ด้วย 1M HCl สกัดเอา neutral และ acidic material ออกด้วยกรวยแยกโดยใช้ตัวทำละลายของ ethyl acetate (3 ครั้ง ครั้งละ 20 มิลลิลิตร) นำสารที่สกัดได้ไประเหยด้วย rotary evaporation จนแห้ง หลังจากนั้นนำ residue ที่ได้มาละลายด้วยน้ำ 10 มิลลิลิตร และโหลดลงบนคอลัมน์ที่แพ็คด้วยสำลี 0.5 กรัม ด้วย flow rate 2 มิลลิลิตร/ นาที หลังจากนั้นล้างคอลัมน์ด้วยน้ำ 20 มิลลิลิตร และ HAs จะถูกชะออกจากสำลีโดยการล้างด้วย 20 มิลลิลิตร ของ methanol-ammonium hydroxide(50:1v/v) นำไปตรวจหาปริมาณ HAs ชนิดจำเพาะเจาะจง ได้แก่ PhIP และ MeIQx โดยใช้เครื่อง HPLC

3.5 การประมวลผลทางสถิติ

การวิเคราะห์สถิติใช้โปรแกรม SAS วิเคราะห์ความแปรปรวนและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของกลุ่มโดยวิธี Duncan’s new multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

บทที่ 4

ผลวิจัยและอภิปรายผล

4.1. องค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์ย่าง

ปริมาณความชื้นของไก่ย่าง และหมูย่างมีค่าอยู่ในช่วง 48 – 62% เนื้อสัตว์ที่ผ่านการหมักก่อนนำไปย่างจะมีความชุ่มน้ำมากกว่าเนื้อสัตว์ที่ไม่ผ่านการหมัก เนื่องจากส่วนผสมที่ใช้ในการหมักได้แก่ ซีอิ๊วขาว เกลือ น้ำตาล มีส่วนช่วยดูดซับน้ำให้แทรกซึมเข้าสู่กล้ามเนื้อด้านใน ทำให้เนื้อสัมผัสภายหลังการย่างมีความนุ่ม นอกจากนี้เมื่อพิจารณาถึงเปอร์เซ็นต์ (%) ของน้ำหนักที่หายไปหลังจากผ่านการย่าง จะพบว่าเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหมักจะมีน้ำหนักที่หายไปหลังจากย่างแล้วน้อยกว่าเนื้อสัตว์ที่ไม่ผ่านการหมัก แสดงว่าเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหมักมีความชุ่มชื้นมากกว่าเนื้อสัตว์ที่ไม่ผ่านการหมัก เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักที่สูญเสียไประหว่างการย่างของเนื้อไก่และเนื้อหมูก็เป็นไปในทางเดียวกัน (ตารางที่ 3)

ปริมาณไขมันในไก่ย่างและหมูย่างมีความแตกต่างกันมาก ไก่ย่างมีปริมาณไขมันอยู่ในช่วง 5.99-6.15 % ส่วนหมูย่างมีปริมาณไขมันอยู่ถึง 14.33-15.25 % ส่วนปริมาณโปรตีนนั้นเนื้อสัตว์ทั้ง 2 ชนิดมีค่าใกล้เคียงกัน ไก่ย่างจะมีโปรตีนสูงกว่าหมูย่างเล็กน้อย

ตารางที่ 3 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของเนื้อสัตว์ย่าง

ชนิดเนื้อสัตว์	การเตรียมก่อนนำไปย่าง	ความชื้น (%)	ไขมัน (%)	โปรตีน (%)	น้ำหนักที่หายไปหลังจากผ่านการย่าง (%)
เนื้อไก่	ไม่หมัก	55.84 ± 2.22	6.15 ± 0.31	30.11 ± 1.83	44.85 ± 1.88
	หมัก	62.03 ±2.95	5.99 ± 0.40	29.09 ± 1.64	35.63 ± 1.26
เนื้อหมู	ไม่หมัก	48.72± 1.15	14.33 ±0.89	26.99 ± 1.24	40.90 ± 3.21
	หมัก	53.32 ± 2.78	15.25 ± 0.76	27.20 ± 0.81	36.08 ± 1.33

4.2 ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของเนื้อสัตว์ย่าง

เนื้อไก่ย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรโดยไม่ใส่เครื่องปรุงรส เมื่อนำไปสกัดสารก่อกลายพันธุ์และตรวจหาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้น ด้วยวิธี Ames test พบว่าไก่ย่างในกลุ่มทดลองซึ่งมีส่วนผสมของสมุนไพรในน้ำหมักจะมีจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (เนื้อสัตว์ที่ไม่ผสมเครื่องปรุงรสและสมุนไพรใด ๆ) ตัวอย่างไก่ย่างของกลุ่มควบคุม มีจำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์เฉลี่ยอยู่ในช่วง 189 ± 34 โคโลนี/ จานเลี้ยงเชื้อ ส่วนค่าที่แสดงอยู่ในตารางที่ 4 นั้นได้รายงานเป็น % inhibition โดยการคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์ของจำนวนโคโลนีกลายพันธุ์ที่ลดลงของไก่ย่างกลุ่มทดลองเทียบกับกลุ่มควบคุม เมื่อพิจารณาค่า % inhibition และค่าวิเคราะห์ทางสถิติของไก่ย่างที่หมักด้วยสมุนไพรโดยไม่ใส่เครื่องปรุงรส จะเห็นได้ว่าการหมักเนื้อไก่ด้วยสารสกัดสมุนไพรรวม 3 ชนิดในแอลกอฮอล์ให้ผลดีที่สุดในการช่วยลดการฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่าง (65.98 %) รองลงมาเป็นสารสกัดขมิ้นชันในแอลกอฮอล์ (63.24%) แต่เมื่อใช้น้ำเป็นตัวสกัดนั้นสมุนไพรรวม 3 ชนิดและขมิ้นชันให้ผลไม่แตกต่างกัน (อยู่ในช่วง 54 -56%)

สำหรับ % inhibition ของเนื้อไก่ย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรและเครื่องปรุงรส ได้เปรียบเทียบกับกลุ่มทดลองชุดที่ 1 คือ เนื้อไก่ที่หมักด้วยเครื่องปรุงรสเพียงอย่างเดียว (จำนวนโคโลนีที่กลายพันธุ์ เฉลี่ยอยู่ในช่วง 221 ± 23 โคโลนี/ จานเลี้ยงเชื้อ) พบว่าสารสกัดขมิ้นชันในน้ำมีผลในการช่วยลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์สูงที่สุด (72.68%) อย่างไรก็ตามไม่ว่าจะสกัดขมิ้นชันด้วยน้ำหรือแอลกอฮอล์ ประสิทธิภาพในการช่วยลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างก็ไม่แตกต่างกัน รวมถึงสารสกัดสมุนไพรรวม 3 ชนิดในตัวทำละลายทั้งสองด้วย ส่วนสารสกัดรากผักชีในน้ำให้ผลต่ำที่สุดในการลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ทั้งสภาวะใส่และไม่ใส่เครื่องปรุงรส

ตัวอย่างหมูย่างแสดงอยู่ในตารางที่ 5 สารสกัดขมิ้นชันให้ผลช่วยลดการเกิดสารก่อกลายพันธุ์ในหมูย่างได้สูงสุด (73.64%) รองลงมาเป็นสารสกัดรากผักชี และต่ำที่สุดเป็นสารสกัดตะไคร้ ส่วนสารสกัดของสมุนไพร 3 ชนิดให้ผลในการช่วยลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ได้ดีไม่แตกต่างจากขมิ้นชัน ในทุกสภาวะของการทดลอง

ตารางที่ 6 แสดงผล % inhibition ในเนื้อไก่ย่างและหมูย่างที่หมักด้วยด้วยเครื่องปรุงรส พร้อมด้วยสมุนไพรแต่ละชนิด สมุนไพรที่ผสมร่วมกันทีละคู่ และสมุนไพรรวมทั้ง 3 ชนิด เปรียบเทียบกันจะเห็นว่าไก่ย่างและหมูย่างที่หมักด้วยสารสกัดน้ำและสารสกัดแอลกอฮอล์ของสมุนไพรที่มีขมิ้นชันเป็นส่วนผสมจะมี % inhibition สูงที่สุดใกล้เคียงกันกับการหมักเนื้อสัตว์ด้วยขมิ้นชันเพียงอย่างเดียว ส่วนสารสกัดจากสมุนไพรชนิดอื่น ๆ ได้แก่ตะไคร้ และรากผักชีที่ใช้หมักแบบเดี่ยวหรือแบบผสมร่วมกันนั้นไม่ได้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ % inhibition แต่อย่างใด แสดงให้เห็นว่าตะไคร้และรากผักชีไม่ได้มีฤทธิ์ในทางส่งเสริมหรือหักล้างฤทธิ์กันในการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นในเนื้อสัตว์ไก่ย่างและหมูย่าง ส่วนขมิ้นชันนั้นมีฤทธิ์ที่ดีในการยับยั้งการก่อกลายพันธุ์โดยตัวของมันเอง ไม่มีผลในทางส่งเสริมหรือหักล้างฤทธิ์กันกับสมุนไพรตัวอื่นๆ

4.3 ปริมาณสารก่อกลายพันธุ์จำพวก Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) ในเนื้อสัตว์ย่าง

ปริมาณ Total PAHs เป็นค่าที่ได้จากผลรวมของค่าเฉลี่ยของ PAH แต่ละตัวซึ่งในการทดลองนี้มี PAHs 16 ชนิด ได้แก่ Acenaphthylene Naphthalene Acenaphthene Fluorene Phenanthrene Anthracene Fluoranthene Pyrene Benzo(a)fluoranthene Chrysene Benzo(b)fluoranthene Benzo(k)fluoranthene Benzo(a)pyrene Dibenzo(a,h)anthracene Benzo(g,h,i)perylene และ Indeno(1,2,3-cd)pyrene ถูกรายงานอยู่ในตารางที่ 6 และตารางที่ 7 ซึ่งเป็นของตัวอย่างไก่ย่างและหมูย่างตามลำดับ

จากตารางที่ 7 รายงานปริมาณสารก่อกลายพันธุ์จำพวก Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) 16 ชนิดในเนื้อไก่ย่าง ทั้งกรณีที่ใส่และไม่ใส่เครื่องปรุงรส ในกรณีหมักเนื้อไก่ด้วยสมุนไพรแต่ไม่ใส่เครื่องปรุงรส ตัวอย่างไก่ย่างที่หมักด้วยสมุนไพร ได้แก่สารสกัดน้ำหรือแอลกอฮอล์ของตะไคร้ ขมิ้นชัน และสมุนไพรรวม 3 ชนิดล้วนมีผลทำให้ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นสารสกัดน้ำหรือแอลกอฮอล์ของรากผักชีที่ให้ผลไม่แตกต่างจาก control สารสกัดขมิ้นชันในแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการลดสารก่อกลายพันธุ์กลุ่ม PAHs ในไก่ย่าง โดยสามารถทำให้ปริมาณของสารประกอบ PAHs ที่ก่อตัวขึ้นจากกระบวนการย่างลดลงได้ถึง 82.18% ส่วนสารสกัดตะไคร้ในแอลกอฮอล์ลดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ได้ 74.89% และสารสกัดสมุนไพรรวม 3 ชนิดในน้ำหรือแอลกอฮอล์ช่วยลดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่าง ได้ 25.9%

สำหรับกรณีการหมักเนื้อไก่ด้วยสมุนไพรและเครื่องปรุงรสนั้น พบว่ามีประสิทธิภาพทำให้ปริมาณ PAHs ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยเฉพาะสารสกัดน้ำหรือแอลกอฮอล์ของขมิ้นชัน และสมุนไพรรวม 3 ชนิด ที่ส่งผลลดปริมาณสารประกอบ PAHs สูงที่สุด อยู่ในช่วง 85.31 – 91.25% ส่วนสารสกัดน้ำหรือแอลกอฮอล์ของรากผักชี และสารสกัดแอลกอฮอล์ของตะไคร้ให้ผลยับยั้งการเกิด PAHs ใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 33.91 -47.55%

ปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ PAHs ที่เกิดขึ้นในเนื้อหมูย่างที่หมักด้วยสมุนไพร ทั้งกรณีที่ใส่และไม่ใส่เครื่องปรุงรส แสดงในตารางที่ 8 หมูย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพร แต่ไม่ใส่เครื่องปรุงรสมีปริมาณ PAHs น้อยกว่า control อย่างมีนัยสำคัญ หมูที่หมักด้วยสารสกัดแอลกอฮอล์ของสมุนไพรรวม 3 ชนิดมีผลในการยับยั้งการเกิด PAHs มากที่สุด (50.52%) สำหรับหมูย่างที่หมักด้วยสมุนไพรและใส่เครื่องปรุงรสมีบางตัวอย่างที่มีปริมาณ PAHs โดยเฉลี่ยสูงกว่า control ได้แก่หมูที่หมักด้วยสารสกัดน้ำของรากผักชี และ หมูที่หมักด้วยสารสกัดน้ำของตะไคร้ หมูที่หมักด้วยสารสกัดแอลกอฮอล์ของขมิ้นชันให้ผลสูงสุดในการลดปริมาณ PAHs ในเนื้อหมูย่าง เมื่อพิจารณาถึงผลของตัวทำละลายที่ใช้สกัดสมุนไพรกับปริมาณ PAHs ที่เกิดขึ้นในหมูย่างที่หมักด้วยสมุนไพรและเครื่องปรุงรส พบว่ามีความแตกต่างระหว่างน้ำและแอลกอฮอล์ โดยที่สารสกัดสมุนไพรในแอลกอฮอล์มีผลในการยับยั้งการเกิด PAHs ได้ดีกว่าสารสกัดน้ำ ยกเว้นตัวอย่างหมูที่หมักด้วยสมุนไพรรวม 3 ชนิด

4.4 ปริมาณสารก่อกลายพันธุ์จำพวก Heterocyclic Amines (HAs) ในเนื้อสัตว์ย่าง

เมื่อวัดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ในกลุ่ม HAs ในเนื้อไก่ย่างที่หมักด้วยสมุนไพรชนิดต่าง ๆ ทั้งกรณีใส่และไม่ใส่เครื่องปรุงรส จากตารางที่ 9 แสดงให้เห็นว่า สารสกัดน้ำและแอลกอฮอล์ของสมุนไพรทุกชนิด ได้แก่ตะไคร้ รากผักชี ขมิ้นชัน และสมุนไพรรวม 3 ชนิด มีประสิทธิภาพในการลดปริมาณสาร HAs ลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สารสกัดแอลกอฮอล์ของขมิ้นชันให้ผลดีที่สุดในการลดปริมาณสาร HAs (สามารถยับยั้งได้ถึง 94.70%) นอกจากนี้สารสกัดของสมุนไพรในตัวทำละลายที่ต่างกันก็ให้ผลแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดแอลกอฮอล์มีผลในการลดปริมาณสาร HAs มากกว่าสารสกัดน้ำ

จากตารางที่ 10 แสดงปริมาณสาร total HAs ในเนื้อหมูย่างที่หมักด้วยสมุนไพรชนิดต่างๆ ทั้งกรณีที่ใส่และไม่ใส่เครื่องปรุงรส พบว่าสารสกัดน้ำและแอลกอฮอล์ของสมุนไพรทุกชนิดมีผลในการลดปริมาณสาร HAs อย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดแอลกอฮอล์ของสมุนไพรทุกชนิดมีประสิทธิภาพยับยั้งการเกิด HAs ได้มากกว่าสารสกัดน้ำ สารสกัดแอลกอฮอล์ของรากผักชีมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเกิด HAs ในหมูย่างที่หมักแบบไม่มีเครื่องปรุงรส (สามารถยับยั้งได้ถึง 95.86%) ส่วนสารสกัดแอลกอฮอล์ของขมิ้นชันมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งการเกิด HAs ในหมูย่างที่หมักแบบมีเครื่องปรุงรส (สามารถยับยั้งได้ถึง 95.71%)

4.5 การเปรียบเทียบฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ระหว่างไก่ย่างและหมูย่างที่มาจากส่วนของกล้ามเนื้อที่แตกต่างกัน

ข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 11 เป็นการเปรียบเทียบระหว่างชนิดของเนื้อสัตว์ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมี (โดยเฉพาะปริมาณไขมัน) แตกต่างกันกับฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ที่เกิดขึ้นเมื่อนำเนื้อสัตว์ไปผ่านการย่าง และปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ได้แก่ Total PAHs และ Total HAs จะเห็นว่า ปริมาณความชื้นและโปรตีนของเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิดไม่แตกกันมากนัก ส่วนปริมาณไขมันนั้นเนื้อไก่ส่วนอกมีปริมาณไขมันแตกต่างจากเนื้อหมูส่วนที่เป็นสันในน้อยกว่าหมูส่วนสันคอ ซึ่งแตกต่างกันมากถึง 2.5 เท่า อย่างไรก็ตามเมื่อนำเนื้อสัตว์ย่างทั้ง 3 ชนิดมาวัดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์และปริมาณ Total HAs แล้วกลับพบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ยกเว้นปริมาณ PAHs ที่วัดได้จากเนื้อสัตว์ทั้ง 3 ชนิดล้วนแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4 แสดงผลของสมุนไพรที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของไก่ย่างเมื่อทดสอบในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98

เนื้อไก่หมักด้วยสมุนไพร/ ตัวทำละลาย	**เครื่องปรุงรส**	**% inhibition ***
รากผักชี/ น้ำ	-	13.90±3.76^{e}
ตะไคร้/ น้ำ	-	22.99±4.21^{de}
ขมิ้นชัน/ น้ำ	-	55.92±6.24^{b}
รวม 3 ชนิด/ น้ำ	-	53.93±1.36^{b}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์	-	28.67±6.02^{d}
ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	-	31.26±4.29^{d}
ขมิ้นชัน/ แอลกอฮอล์	-	63.24±5.43^{ab}
รวม 3 ชนิด/ แอลกอฮอล์	-	65.98±8.21^{a}
รากผักชี/ น้ำ	+	23.12±7.68^{de}
ตะไคร้/ น้ำ	+	28.93±4.31^{d}
ขมิ้นชัน/ น้ำ	+	72.68±3.66^{a}
รวม 3 ชนิด/ น้ำ	+	67.80±7.59^{a}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์	+	42.84±2.81^{c}
ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	+	32.10±6.10^{d}
ขมิ้นชัน/ แอลกอฮอล์	+	67.75±6.94^{a}
รวม 3 ชนิด/ แอลกอฮอล์	+	71.10±7.52^{a}

หมายเหตุ: - คือไม่ใส่เครื่องปรุงรส, + คือ ใส่เครื่องปรุงรส, * ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 %

ตารางที่ 5 แสดงผลของสมุนไพรที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของหมูย่างเมื่อทดสอบในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98

หมูหมักสมุนไพร/ ตัวทำละลาย	**เครื่องปรุงรส**	**% inhibition ***
รากผักชี/ น้ำ	-	26.85±3.10^{d}
ตะไคร้/ น้ำ	-	19.63±2.38^{e}
ขมิ้นชัน/ น้ำ	-	59.69±3.08^{b}
รวม 3 ชนิด/ น้ำ	-	57.81±2.32^{b}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์	-	42.47±0.94^{c}
ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	-	30.67±4.74^{d}
ขมิ้นชัน/ แอลกอฮอล์	-	65.83±4.16^{a}
รวม 3 ชนิด/ แอลกอฮอล์	-	64.36±3.99^{ab}
รากผักชี/ น้ำ	+	29.91±0.88^{d}
ตะไคร้/ น้ำ	+	23.00±4.43^{de}
ขมิ้นชัน/ น้ำ	+	72.04±5.47^{a}
รวม 3 ชนิด/ น้ำ	+	65.12±5.16^{ab}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์	+	48.44±2.88^{d}
ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	+	24.10±4.57^{de}
ขมิ้นชัน/ แอลกอฮอล์	+	73.64±3.49^{a}
รวม 3 ชนิด/ แอลกอฮอล์	+	71.36±4.19^{a}

หมายเหตุ: - คือไม่ใส่เครื่องปรุงรส, + คือ ใส่เครื่องปรุงรส, * ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 %

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบผลของสมุนไพร (แบบผสมกัน) ที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของไก่ย่างและหมูย่างเมื่อทดสอบในแบคทีเรีย *Salmonella typhimurium* สายพันธุ์ TA 98 ในกรณีที่หมักแบบผสมเครื่องปรุงรส

สมุนไพร/ ตัวทำละลาย	**% inhibition ***	
	ไก่ย่าง	**หมูย่าง**
รากผักชี/ น้ำ	23.12±7.68^{de}	29.91±0.88^{d}
ตะไคร้/ น้ำ	28.93±4.31^{d}	23.00±4.43^{de}
ขมิ้นชัน/ น้ำ	72.68±3.66^{a}	72.04±5.47^{a}
รากผักชี/ น้ำ + ตะไคร้/ น้ำ	24.05±3.65^{de}	24.86±3.52^{de}
รากผักชี/ น้ำ + ขมิ้นชัน/ น้ำ	70.41±4.77^{a}	65.90±3.66^{ab}
ตะไคร้/ น้ำ + ขมิ้นชัน/ น้ำ	66.60±6.13^{a}	63.70±5.04^{ab}
รวม 3 ชนิด/ น้ำ	67.80±7.59^{a}	65.12±5.16^{ab}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์	42.84±2.81^{c}	48.44±2.88^{d}
ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	32.10±6.10^{d}	24.10±4.57^{de}
ขมิ้นชัน/ แอลกอฮอล์	67.75±6.94^{a}	73.64±3.49^{a}
รากผักชี/ แอลกอฮอล์+ ตะไคร้/ แอลกอฮอล์	33.18±2.63^{d}	35.98±1.96^{d}
รากผักชี/แอลกอฮอล์ + ขมิ้นชัน/แอลกอฮอล์	65.78±5.08^{a}	67.30±4.13^{a}
ตะไคร้/แอลกอฮอล์ + ขมิ้นชัน/แอลกอฮอล์	68.43±3.57^{a}	72.14±4.65^{a}
รวม 3 ชนิด/แอลกอฮอล์	71.10±7.52^{a}	71.36±4.19^{a}

หมายเหตุ: * ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 %

ตารางที่ 7 แสดงปริมาณ Total PAHs ในไก่ย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรชนิดต่าง

การหมัก	สมุนไพร/ตัวทำละลาย	ปริมาณ PAHs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)																
		Acenaphthylene	Naphthalene	Acenaphthene	Fluorene	Phenanthrene	Anthracene	Fluoranthene	Pyrene	B(a)F	Chrysene	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(a,h)A	B(g,h,i)P	I(1,2,3-cd)	Total PAHs*
ไม่ใส่เครื่องปรุง	Control	1.85	ND	ND	0.07	0.20	ND	ND	ND	ND	0.35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.47^{ab}
	รากผักชี/น้ำ	1.56	0.83	0.22	ND	0.00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.6^{ab}
	รากผักชี/alcohol	1.35	ND	0.71	0.07	ND	ND	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.17^{abc}
	ตะไคร้/น้ำ	1.12	0.48	ND	0.07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.66^{cd}
	ตะไคร้/alcohol	0.12	ND	0.10	0.17	ND	ND	ND	ND	0.24	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.62^{f}
	ขมิ้น/น้ำ	0.45	ND	ND	0.35	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.80^{ef}
	ขมิ้น/alcohol	0.20	0.18	0.07	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.44^{f}
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	ND	0.33	ND	0.15	ND	ND	ND	ND	1.40	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.87^{bc}
	รวม3 ชนิด/alcohol	0.54	ND	0.90	ND	ND	ND	ND	ND	0.39	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.83^{bc}
ใส่เครื่องปรุง	Control	1.61	0.35	0.10	0.31	ND	ND	ND	ND	0.50	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	2.86^{a}
	รากผักชี/น้ำ	0.95	0.32	0.38	0.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.68^{cd}
	รากผักชี/alcohol	1.21	0.25	0.00	ND	ND	0.06	ND	0.37	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.89^{bc}
	ตะไคร้/น้ำ	0.20	0.34	0.00	ND	ND	0.14	ND	0.15	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.82^{ef}
	ตะไคร้/alcohol	0.31	0.72	0.38	ND	ND	0.10	ND	0.00	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1.50^{cde}
	ขมิ้น/น้ำ	ND	0.12	ND	ND	ND	ND	ND	0.30	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.42^{f}
	ขมิ้น/alcohol	0.09	0.16	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.25^{f}
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	0.31	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.31^{f}
	รวม 3 ชนิด/alcohol	0.21	0.13	ND	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.39^{f}

หมายเหตุ : B(a)F = Benzo(a)fluoranthene, B(b)F = Benzo(b)fluoranthene, B(k)F = Benzo(k)fluoranthene, B(a)P = Benzo(a)pyrene, D(a,h)A = Dibenzo(a,h)Anthracene, B(g,h,i)P = Benzo(g,h,i)perylene, I(1,2,3-cd) = Indeno(1,2,3-cd)pyrene , * ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 %, ND= Not detectable

ตารางที่ 8 แสดงปริมาณ Total PAHs ในหมูย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรชนิดต่าง

การหมัก	สมุนไพร/ตัวทำละลาย	ปริมาณ PAHs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)																
		Acenaphthylene	Naphthalene	Acenaphthene	Fluorene	Phenanthrene	Anthracene	Fluoranthene	Pyrene	B(a)F	Chrysene	B(b)F	B(k)F	B(a)P	D(a,h)A	B(g,h,i)P	I(1,2,3-cd)	Total PAHs*
ไม่ใส่เครื่องปรุง	Control	15.90	4.10	2.18	0.11	1.00	0.44	ND	ND	0.28	0.17	0.98	ND	ND	ND	ND	ND	25.12^{cd}
	รากผักชี/น้ำ	3.39	7.88	1.43	ND	4.69	ND	ND	0.44	0.22	ND	0.29	ND	ND	ND	ND	ND	18.33^{def}
	รากผักชี/alcohol	8.14	3.15	0.00	ND	ND	0.49	ND	1.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.80^{efg}
	ตะไคร้/น้ำ	14.69	4.96	0.44	1.28	0.26	1.05	ND	ND	1.75	ND	0.19	ND	ND	ND	ND	ND	24.59^{d}
	ตะไคร้/alcohol	7.88	4.64	0.53	3.69	ND	0.33	1.22	0.30	1.20	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	19.77^{def}
	ขมิ้น/น้ำ	2.83	4.27	1.09	4.39	ND	0.64	0.15	0.63	2.48	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16.46^{ef}
	ขมิ้น/alcohol	1.81	3.00	1.56	1.58	ND	0.91	ND	0.62	7.19	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	16.65^{ef}
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	14.18	0.04	ND	0.18	1.26	0.52	2.11	0.07	0.27	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	18.75^{def}
	รวม 3 ชนิด/alcohol	8.55	0.64	1.06	0.10	ND	ND	0.07	2.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	12.43^{fg}
ใส่เครื่องปรุง	Control	23.18	3.81	1.46	1.29	ND	0.08	ND	2.43	ND	0.78	ND	ND	ND	ND	ND	ND	33.03^{bc}
	รากผักชี/น้ำ	43.41	1.82	2.08	0.20	0.21	ND	0.09	0.18	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	47.97^{a}
	รากผักชี/alcohol	18.36	0.76	1.11	0.30	ND	ND	ND	1.78	0.12	0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND	22.43^{d}
	ตะไคร้/น้ำ	35.11	0.54	ND	0.89	0.35	ND	ND	ND	ND	0.05	ND	ND	ND	ND	ND	ND	36.93^{b}
	ตะไคร้/alcohol	3.11	5.51	2.52	ND	ND	ND	ND	0.68	1.53	0.04	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13.38^{efg}
	ขมิ้น/น้ำ	15.22	1.46	0.31	0.09	ND	0.38	ND	1.82	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	19.27^{def}
	ขมิ้น/alcohol	3.81	1.45	1.07	ND	ND	ND	ND	0.69	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	7.01^{g}
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	5.80	11.79	0.76	0.55	ND	ND	ND	1.75	0.10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	20.75^{def}
	รวม 3 ชนิด/alcohol	4.92	2.52	0.31	1.18	0.13	1.78	0.97	1.57	0.03	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	13.38^{efg}

หมายเหตุ : B(a)F = Benzo(a)fluoranthene, B(b)F = Benzo(b)fluoranthene, B(k)F = Benzo(k)fluoranthene, B(a)P = Benzo(a)pyrene, D(a,h)A = Dibenzo(a,h)Anthracene, B(g,h,i)P = Benzo(g,h,i)perylene, I(1,2,3-cd) = Indeno(1,2,3-cd)pyrene, * ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 % , ND = Not detectable

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณ Total HAs ในไก่ย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรชนิดต่าง

การหมัก	สมุนไพร/ ตัวทำละลาย	HAs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)		
		PhIP	MeIQx	Total HAs*
ไม่ใส่เครื่องปรุง	Control	0.49	2.72	3.21^{b}
	รากผักชี/ น้ำ	0.64	0.71	1.35^{ef}
	รากผักชี/ alcohol	0.27	0.34	0.60^{gh}
	ตะไคร้/ น้ำ	0.60	0.45	1.05^{eg}
	ตะไคร้/ alcohol	0.34	1.41	1.74^{cde}
	ขมิ้น/ น้ำ	0.21	1.32	1.53^{def}
	ขมิ้น/ alcohol	0.10	0.01	0.11^{h}
	รวม 3 ชนิด/ น้ำ	0.22	1.63	1.85^{cdf}
	รวม 3 ชนิด/ alcohol	0.15	1.25	1.40^{ef}
ใส่เครื่องปรุง	Control	0.79	3.03	3.82^{a}
	รากผักชี/ น้ำ	0.36	0.10	0.45^{gh}
	รากผักชี/ alcohol	0.16	ND	0.16^{h}
	ตะไคร้/ น้ำ	0.19	0.75	0.94^{fg}
	ตะไคร้/ alcohol	0.26	ND	0.26^{h}
	ขมิ้น/ น้ำ	0.49	0.08	0.56^{gh}
	ขมิ้น/ alcohol	0.01	0.16	0.17^{h}
	รวม 3 ชนิด/ น้ำ	0.33	0.17	0.50^{gh}
	รวม 3 ชนิด/ alcohol	0.07	0.19	0.25^{h}

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %, ND = Not detectable

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณ Total HAs ในหมูย่างที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรชนิดต่าง

การหมัก	สมุนไพร/ตัวทำละลาย	HAs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)		
		PhIP	MeIQx	Total HAs*
ไม่ใส่เครื่องปรุง	Control	0.17	4.18	4.35[a]
	รากผักชี/น้ำ	0.09	0.20	0.29[fg]
	รากผักชี/alcohol	0.13	0.05	0.18[g]
	ตะไคร้/น้ำ	0.22	0.66	0.88[de]
	ตะไคร้/alcohol	0.42	0.36	0.78[def]
	ขมิ้น/น้ำ	0.17	0.42	0.58[defg]
	ขมิ้น/alcohol	0.10	0.15	0.25[g]
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	0.16	0.10	0.26[fg]
	รวม 3 ชนิด/alcohol	0.09	0.81	0.89[de]
ใส่เครื่องปรุง	Control	0.24	3.96	4.2[a]
	รากผักชี/น้ำ	0.25	1.46	1.71[b]
	รากผักชี/alcohol	0.11	0.92	1.03[cd]
	ตะไคร้/น้ำ	0.26	1.17	1.43[bc]
	ตะไคร้/alcohol	0.38	0.19	0.57[defg]
	ขมิ้น/น้ำ	0.16	0.30	0.45[efg]
	ขมิ้น/alcohol	0.18	ND	0.18[g]
	รวม 3 ชนิด/น้ำ	0.31	0.40	0.71[defg]
	รวม 3 ชนิด/alcohol	0.31	0.20	0.50[efg]

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 %%, ND = Not detectable

ตารางที่ 11 แสดงองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างและหมูย่าง 2 ชนิดที่ผ่านการหมักด้วยสมุนไพรสารสกัดขมิ้นชันในแอลกอฮอล์

เนื้อสัตว์	ส่วนที่ใช้	องค์ประกอบทางเคมี (%)			ฤทธิ์ยับยั้งและปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ *		
		ความชื้น	ไขมัน	โปรตีน	% inhibition	ปริมาณ PAHs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)	ปริมาณ HAs (ไมโครกรัม/ กิโลกรัม)
ไก่ย่าง	อก	62.03	5.99	29.09	67.74[a]	0.23[b]	0.17[a]
หมูย่าง 1	สันคอ	53.32	15.25	27.20	69.32[a]	7.00[a]	0.18[a]
หมูย่าง 2	สันใน	58.31	8.14	31.12	72.08[a]	3.80[ab]	0.31[a]

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งหมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

อภิปรายและวิจารณ์ผล

ปริมาณ Total PAHs ที่ได้จากการรวมของค่า PAHs 16 ชนิด ซึ่งวิเคราะห์ได้จากเนื้อสัตว์ย่างในครั้งนี้เป็นผลมาจากไขมันในเนื้อสัตว์ที่หยดลงบนถ่าน ไขมันจะเกิดการไพโรไลซิส (pyrolysis) หรือสลายตัว ซึ่งเป็นการเผาไหม้ที่ไม่สมบูรณ์ทำให้เกิดเป็นควัน ทำให้สาร PAHs ลอยตัวขึ้นมากับควันแล้วมาเกาะที่ผิวอาหาร เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยโดยรวมแล้ว เนื้อหมูย่างมีปริมาณ PAHs มากกว่าไก่ย่าง อันเป็นผลจากปริมาณไขมันในเนื้อหมูที่มีสูงกว่าเนื้อไก่ สอดคล้องกับ Aaslyng *et al*. (2013) ที่รายงานว่าตัวอย่างหมูย่างซึ่งมีไขมันสูงกว่าเนื้อไก่ทำให้มีปริมาณ Total PAHs 40 ไมโครกรัม/ กิโลกรัม ในขณะที่พบในไก่ย่างเพียง 19.7 ไมโครกรัม/ กิโลกรัม คาดว่าสารประกอบฟีโนลิคในสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองนี้น่าจะเป็นสาเหตุหลักของการส่งผลต่อปริมาณสาร PAHs ที่เกิดขึ้นเนื่องจากโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีโนลิคจะมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต้านออกซิเดชั่น ที่มีส่วนช่วยให้ไฮโดรเจนอิออน (ให้อิเล็กตรอน) แก่สารประกอบที่กำลังจะรวมตัวกันเป็น PAHs ระหว่างกระบวนการย่าง ทำให้โมเลกุลไขมันถูกทำให้กลายเป็นสารกลุ่ม PAHs ได้ยากขึ้น เพราะว่าในโครงสร้างของสารประกอบฟีโนลิคนั้นมีกลุ่ม hydroxyl จำนวนมากที่พร้อมจะให้อิเล็กตรอนแก่สารอื่น จึงเป็นการป้องกันการเกิดออกซิเดชั่นของไขมันและโพลีเมอไรเซชั่นของสารประกอบไฮโดรคาร์บอนได้

เมื่อพิจารณาความเป็นพิษของ PAHs แต่ละชนิด จาก 16 ชนิดที่ถูกนำมาใช้เป็นสารมาตรฐานในการทดลองครั้งนี้ โดยใช้เกณฑ์ของหน่วยงาน The International Agency for Research on Cancer, IARC (Report of IARC, 1983) ซึ่งเป็นหน่วยงานหนึ่งขององค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ที่ได้จัดแยกกลุ่มสารเคมีตามความสามารถในการก่อมะเร็ง โดยอิงข้อมูลที่แสดงศักยภาพของการก่อมะเร็งในมนุษย์และสัตว์ทดลอง จะพบว่า Benzo(a)pyrene ถูกจัดอยู่ในพวก group 1 (เป็นสารที่มีหลักฐานยืนยันการก่อมะเร็งทั้งในทางระบาดวิทยาในมนุษย์และในสัตว์ทดลอง) Dibenzo(a,h)anthracene ถูกจัดอยู่ในพวก group 2A (เป็นสารที่มีหลักฐานทางระบาดวิทยาจำนวนน้อยที่บ่งชี้ว่าก่อมะเร็งในมนุษย์และมีหลักฐานยืนยันการก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง) Chrysene, Benzo(b)fluoranthene, Benzo(k)fluoranthene, Indeno(1,2,3-cd)pyrene ถูกจัดอยู่ในพวก group 2B (เป็นสารที่ไม่มีหลักฐานการก่อมะเร็งในมนุษย์ แต่มีหลักฐานยืนยันการก่อมะเร็งในสัตว์ทดลอง) ส่วน PAHs ชนิดที่เหลือ ได้แก่ Carbozole Naphthalene

Acenaphthene Fluorene Phenanthrene Anthracene Fluoranthene Pyrene Benzo(a)fluoranthene ไม่ถูกจัดอยู่ในกลุ่มที่กล่าวมา จึงไม่จัดว่าทำให้เกิดมะเร็งในคนหรือในสัตว์ทดลอง จากข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 6 และตารางที่ 7 ทำให้ทราบว่าชนิดของ PAHs ที่พบในเนื้อสัตว์ย่างทั้ง 2 ชนิดนี้ มักเป็นสารที่อยู่ในกลุ่มที่ไม่จัดว่าทำให้เกิดมะเร็งในคนหรือในสัตว์ทดลอง จึงมีความเป็นอันตรายต่ำ อย่างไรก็ตามสารเหล่านี้ก็เป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในแบคทีเรีย จึงไม่ควรได้รับในปริมาณที่สูงและสม่ำเสมอเป็นประจำซึ่งจะทำให้เกิดความเสี่ยงต่อการเป็นเนื้องอกได้ เนื่องจากการกลายพันธุ์เป็นกระบวนการเริ่มต้นของการทำให้เซลล์เจริญผิดปกติ (Bishop, 1991) Benzo(a)pyrene ที่อยู่ในพวก group 1 และ สาร Dibenzo(a,h)anthracene ที่อยู่ในพวก group 2A ไม่สามารถตรวจพบได้ในตัวอย่างใด ๆ ส่วนสารที่อยู่ในพวก group 2B จะพบ Chrysene และ Benzo(b)fluoranthene บ้างในบางตัวอย่าง โดยเฉพาะเนื้อสัตว์ย่างในกลุ่ม control และในเนื้อสัตว์ย่างที่หมักด้วยสมุนไพรบางชนิด ส่วน Benzo(k)fluoranthene และ Indeno(1,2,3-cd)pyrene นั้นไม่พบในตัวอย่างใดเลย แสดงให้เห็นว่าการหมักเนื้อสัตว์ด้วยสมุนไพรนั้นมีผลต่อการลดปริมาณตัวอย่างเนื้อไก่ย่างและหมูย่าง

นอกจากนี้ไก่ย่างและหมูย่างที่หมักด้วยสมุนไพรชนิดต่างๆ ก็ยังให้ผลในการลดปริมาณการเกิด HAs อย่างเห็นได้ชัด พืชที่แสดงผลลัพธ์ได้สูงที่สุดคือขมิ้นชัน ซึ่งขมิ้นชันนั้นมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล หมู่เมทอกซิล และหมู่คีนโตน ซึ่ง Shishu and Kaur (2008) อธิบายว่าการที่สารประกอบของขมิ้นชันมีโครงสร้างจากหมู่เหล่านี้มีทำผลให้สารก่อกลายพันธุ์จำพวก HAs อันได้แก่ PhIP MeIQx Trp-P-1 IQ และ glu-P-1 มีปริมาณและฤทธิ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และยังยืนยันว่าถึงแม้จะเป็นสารสังเคราะห์ที่จำลองขึ้นมาให้มีสูตรโครงสร้างที่ใกล้เคียงกันก็ยังคงมีผลเป็นอย่างเดียวกัน

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สมุนไพรที่ใช้ในการหมักเนื้อสัตว์มีผลต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ปริมาณสาร PAHs และปริมาณสาร HAs ของเนื้อสัตว์ย่างทั้ง 2 ชนิด ในระดับที่แตกต่างกัน ขมิ้นชันให้ผลดีที่สุดในการลดฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ลดปริมาณการเกิด PAHs และลดปริมาณการเกิด HAs ทั้งในไก่ย่างและหมูย่าง รองลงมาเป็นสารสกัดสมุนไพรรวม 3 ชนิด (ยกเว้นปริมาณ PAHs ในไก่ย่าง กรณีหมักสมุนไพรแบบไม่ใส่เครื่องปรุงรส) ส่วนสารสกัดตะไคร้และสารสกัดรากผักชีมีส่วนในการลดปริมาณสาร HAs ได้อย่างดีเช่นกัน ถึงแม้ว่าจะไม่ได้ช่วยในการลดปริมาณ PAHs มากนัก สารสกัดสมุนไพรในแอลกอฮอล์ของสมุนไพรชนิดต่าง ๆ มีผลในการลดปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ทั้ง PAHs และ HAs ในเนื้อหมูได้ดีกว่าสารสกัดสมุนไพรในน้ำอย่างชัดเจน ในกรณีที่หมักหมูโดยใช้สมุนไพรร่วมกับเครื่องปรุงรส นอกจากนี้ยังไม่พบฤทธิ์ส่งเสริมหรือฤทธิ์หักล้างกันซึ่งกันและกันของสมุนไพรที่มีต่อฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ ดังนั้นในการประกอบอาหารประเภทเนื้อสัตว์ปิ้งย่างจึงควรมีสมุนไพร ได้แก่ ขมิ้นชัน รากผักชี ตะไคร้ (อาจใช้ชนิดเดียวหรือผสม) หมักร่วมกับเนื้อสัตว์ รวมถึงเครื่องปรุงรสต่างๆ ก็จะทำให้เนื้อสัตว์ย่างนั้นมีปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ลดลง ผู้บริโภคก็จะมีความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งลดลง สำหรับคนที่นิยมใช้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในการหมักเนื้อสัตว์ก็เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สามารถทำได้ เนื่องจากแอลกอฮอล์ที่ใช้ในการสกัดสมุนไพรในการศึกษาครั้งนี้มีส่วนทำให้เนื้อหมูย่างมีปริมาณสารก่อกลายพันธุ์ลดลงได้ดีกว่าใช้น้ำสกัดสมุนไพร ซึ่งมันอาจจะมีส่วนช่วยให้สารประกอบที่ออกฤทธิ์ในพืชละลายออกมามากขึ้น จึงช่วยลดฤทธิ์และปริมาณของสารก่อกลายพันธุ์ได้มากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย และอภิญญา จุฑางกูร 2554 การศึกษาสารก่อกลายพันธุ์ในไก่ย่างและอาหารแนมที่ช่วยต้านฤทธิ์ ใน *รายงานการวิจัยชุดโครงการ การวิจัยและพัฒนา อาหารสุขภาพ การประชาสัมพันธ์และการขยายผลสู่เชิงพาณิชย์* หน้า 88-126.

งานทะเบียนมะเร็ง สถาบันมะเร็งแห่งชาติ 2551 สถิติโรคมะเร็งประจำปี พ.ศ. 2550 สถาบันมะเร็งแห่งชาติ: กรุงเทพฯ

อนงค์ เทพสุวรรณ์ นพศรัณย์ ตัณฑศรี และวรรณี คูสำราญ 2544 ฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ในอาหารปิ้งย่างทอดและในน้ำมันที่ใช้ทอดอาหาร. หน้า 498-507.

ทรงศักดิ์ ศรีอนุชาต 2540 ปัจจัยด้านอาหารต่อการเกิดมะเร็ง ใน *พิษวิทยา' 39 เรื่อง ความปลอดภัยของอาหารและสุขภาพ*. สมาคมพิษวิทยาแห่งประเทศไทย หน้า 39 – 59.

ทีมงาน toptenthailand สิบอาหารรถเข็นที่คนไทยชอบมากที่สุด สืบค้นเมื่อวันที่ 1 มิถุนายน 2554. http://www.toptenthailand.com

Aaslyng, M.D., Duedahl-Olesen, L., Jensena, K. and Meine, L. 2013. Content of heterocyclic amines and polycyclic aromatic hydrocarbons in pork, beef and chicken barbecued at home by Danish consumers. Meat Sci. 93 (1): 85-91.

Armindo, M., Olga, V. and Catarina, P. 2008. Effect of beer/red wine marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines in pan-fried beef. J. Agric. Food Chem. 56: 10625–10632.

Bishop, J.M. 1991. Molecular themes in oncogenesis. Cell. 64: 235-248.

Busquets, R., Puignou, L., galceran, M.T. and Skog, K. 2006. Effect of red wine marinades on the formation of heterocyclic amines in fried chicken breast. J. Agric. Food Chem. 54: 8376–8384

Felton J S. and Knize M.G. 1990. Heterocyclic-amine mutagens/carcinogens in foods. pp. 471-502. In C.S. Cogan and P.L. Grown (eds.). Chemical carcinogens and mutagenesis, Handbook of Experimental Pharmacology. Springer Veviol Berlin/London.

JÄGerstad, M., ReuterswÄRd A,L., ÖSte, R., Dahlqvist, A., Grivas, S., Olsson, K. and Nyhammar, T. 1983. Creatinine and Maillard Reaction Products as Precursors of Mutagenic Compounds Formed in Fried Beef, pp. 507-519. In G. Waller and M. Feather (eds.). The Maillard Reaction in Foods and Nutrition, American Chemical Society, Washington, DC.

Jo, C.H., Sim, Y.E., Lee, H.M., Ryeom, T. and Myung, S.W. 2008. Heterocyclic amines in several types of cooked meat and chicken dishes which form part of the Korean diet. Food Sci Technol Res. 14 (2): 169-175.

Liao, G.Z., Wang, G.Y., Xu, X.L. and Zhou, g.H. 2010. Effect of cooking methods on the formation of heterocyclic aromatic amines in chicken and duck breast. Meat Science. 85: 149-154.

Maron, D.M. and Ames, B.N. 1983. Revised methods for the salmonella mutagenicity test, Mutat. Res. 113: 173-215.

Murakami, A., Jiwajinda, S., Ohigashi H. and Koshimizu K. 1995. Screening for in vitro anti-tumor promoting activities of edible plant from Thailand. Cancer Lett. 95: 139-146.

Murkovic, M., Steinberger, D. and Pfannhauser, W. 1998. Antioxidant spices reduce the formation of heterocyclic amines in fried meat. Z Lebensm.Unters Forsch A. 207: 477–480.

Nagao, M. 1999. A new approach to risk estimation of food-borne carcinogens heterocyclic amines based on molecular information. Mutat. Res. 431: 3–12.

Nagao, M. and Sugimura, T. 2000. Food borne carcinogens: heterocyclic amines. pp. 163-195. John Wiley and Sons, Ltd, England.

Nakahara, K., Trakoontivakorn, G., Alzoreky, N.S., Ono, H., Onishi-Kameyama, M. and Yoshida, M. 2002. Antimutagenicity of some edible Thai plants, and a bioactive carbazole alkaloid, mahanine, isolated from Micromelum minutum, J Agric. Food Chem.: 4796-4802.

Overvik, E., Nilsson, L., Fredholm, L., Levin, O., Nord, C.E. and Gustafsson, J.A. 1987. Mutagenicity of pan residues and gravy from fried meat. Mutat. Res. 187: 47-53.

Persson, E., graziani, G., Ferracane, R., Foligliano, V. and Skog, K. 2003. Influence of antioxidants in virgin olive oil on the formation of heterocyclic amines in fried beefburgers. Food Chem. Toxicol. 41: 1587–1597.

Puangsombat, K. and Smith, J.S. 2010**.** Inhibition of Heterocyclic Amine Formation in Beef Patties by Ethanolic Extracts of Rosemary. J. of Food Sci. 75 (2): 40-47.

Quelhas, I., Fetsica, C. and Viegas, O. Melo, A., Pinho**, O**. and Ferreira, I.M.P.L.V.O. 2010. Effect of green tea marinades on the formation of heterocyclic aromatic amines and sensory quality of pan-fried beef. Food Chem. 122: 98–104.

Report of IARC. 1983. IARC Monographs on the evaluation of the carcinogenic risk of chemicals in humans, Polynuclear aromatic compounds, Part.1, Chemical, Environmental and Experimental Data, vol.32.

Salmon, C.P., Knize, M.G., and Felton, J.S. 1997. Effects of marinating on heterocyclic amine carcinogen formation in grilled chicken. Food Chem Toxicol. 35 (5): 433–441.

Shishu and Kaur, I.P. 2008. Antimutagenicity of curcumin and related compounds against genotoxic heterocyclic amines from cooked food: The structural requirement. Food Chem. 111(3): 573-579.

Sugimura, T., Nagao, N., Kawachi, T., Honda, M., Yahagi, T., Seino, Y., Stao, S., Matsukura, N., Matsushima, T., Shirai, A., Sawamura, M. and Matsumoto, H. 1977. Mutagen-carcinogens in food, with special reference to highly mutagenic pyrolytic products in boiled foods. pp. 1561-1577. In H.H. Hiatt, J.D. Watson, and J.A. Winstein (eds.) Origins of human cancer. Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, USA.

Tikkanen, L.M., Latva-kala, K.J. and Heinio, R.L. 1996. Effect of commercial marinades on the mutagenic activity, sensory quality and amount of heterocyclic amines in chicken grilled under different condition. Food Chem. Toxicol. 34: 725-730.

Weisburger, J.H., Nagao, M., Wakabayashi, K. and Oguri, A. 1994. Prevention of heterocyclic amine formation by tea and tea polyphenols. Cancer Lett. 83: 143–147.

Weisburger, J.H.,Veliath, E., Larios, E., Pittman, B., Zang, E. and Hara, Y. 2002. Tea polyphenols inhibit the formation of mutagens during the cooking of meat. Mutat. Res. 516: 19–22.

World Health Organization. 2003. Recommendations for preventing cancer. pp. 95-104. In WHO Technical Report Series No. 916. Geneva, Switzerland.

Wu, R.W., Tucker, J.D., Sorensen, K.J., Thompson, L.H. and Felton, J.S. 1997. Differential effect of acetyltransferase expression on the genotoxicity of heterocyclic amines in CHO cells. Mutat. Res. 390: 93–103.

ประวัติและผลงานของนักวิจัย

หัวหน้าโครงการวิจัย

1. นางจันทร์เพ็ญ แสงประกาย
   หน่วยงาน:
   สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กทม. 10900
   โทร. 02 942 8629 ต่อ 905 e-mail: ifrjps@ku.ac.th

ประสบการณ์งานวิจัย

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย เกศศิณี ตระกูลทิวากร เพลินใจ ตังคณะกุล แลช่อลัดดา เที่ยงพุก 2555 ฤทธิ์ต้านการแบ่งเซลล์ของพืชบางชนิดที่เป็นส่วนผสมในเครื่องแกงเขียวหวานต่อเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาววารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 4(7): 23-36.

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย 2555 สารพิษที่มากับอาหารทอด ปิ้ง ย่างและแนวทางในการหลีกเลี่ยง. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 57(1): 15-21.

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย จันทร์สุดา จริยวัฒนวิจิตร และช่อลัดดา เที่ยงพุก 2555 ผลของความร้อนที่มีต่อฤทธิ์ต้านการกลายพันธุ์ของพืชตระกูลแตงบางชนิด รายงานการวิจัยในการประชุมวิชาการและเสนอผลงานวิจัยพืชเขตร้อนและกึ่งร้อน ครั้งที่ 6 ณ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ กรุงเทพมหานคร, 26-27 ก.ค. 2555. หน้า 53.

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย อภิญญา จุฑางกูร และช่อลัดดา เที่ยงพุก 2554 การตรวจสอบความเป็นพิษต่อยีนและฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ของสารสกัดจากลองกองโดยใช้แบคทีเรีย *Salmonella*. วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 42(2): 253-256.

จันทร์เพ็ญ แสงประกาย เกศศิณี ตระกูลทิวากร และดาลัด ศิริวัน 2552 การทดสอบฤทธิ์ต้านการก่อกลายพันธุ์ของสารสกัดน้ำพริกและผักแนมโดยวิธีสอบเอมส์, วารสารอาหาร 39 (1): 73-85.

ทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ ลัดดา วัฒนศิริธรรม และจันทร์เพ็ญ แสงประกาย 2554 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟินอลิกในผลไม้ที่คัดเลือก. วารสารคหเศรษฐศาสตร์ 54(3): 17-24.

จันทร์สุดา จริยวัฒนวิจิตร อภิญญา จุฑางกูร และจันทร์เพ็ญ แสงประกาย 2554 ปริมาณกรดอะมิโนอิสระที่มีผลต่อรสชาติในเห็ดหอมสดที่ผลิตจากภาคเหนือของประเทศไทย, วารสารวิทยาศาสตร์การเกษตร 42(1): 171-174

สุพัตรา เกิดสุข จันทร์เพ็ญ แสงประกาย นฤพร เพ็ชร์กลาง และ ศิริลักษณ์ เอี่ยมธรรม 2551 การศึกษาฤทธิ์ก่อกลายพันธุ์ของสมุนไพรบางชนิดหลังทำปฏิกิริยากับไนไตรท์โดยวิธีเอมส์, Thai Journal of genetics 1(2): 114-121.

ชมดาว สิกขะมณฑล ไพลิน ผู้พัฒน์ จันทร์เพ็ญ ศักดิ์สิทธิพิทักษ์ และจารุวรรณ ศิริพรรณพร 2548 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตคุกกี้เห็ด และการทดสอบการยอมรับ วารสารอาหาร 35(4): 293-301.

เกศศิณี ตระกูลทิวากร จันทร์เพ็ญ ศักดิ์สิทธิพิทักษ์ 2543 ศักยภาพในการต้านสารอนุมูลอิสระของสารสกัดจากผักพื้นบ้านไทย อาหาร 30(3): 164-176

Janpen Saengprakai, Apinya Chudhangkura and Chansuda Jariyavattanavijit. 2007. Antimutagenicity and Free Radical Scavenging Activity of Thai Food with Tumeric (*Curcuma longa L.*) Constituent. *In* proceeding of The 19th Annual Meeting of the Thai

Society for Biotechnology “TSB2007: Biotechnology for gross National Happiness”. Thammasat University, Pathumthani, Thailand. p 170-176.

Plernchai Tangkanakul, gassinee Trakoontivakorn, Janpen Saengprakai, Payom Auttaviboonkul, Boonma Niyomwit, Ngamjit Lowvitoon and Kazuhiko Nakahara. 2011. Antioxidant Capacity and Antimutagenicity of Thermal Processed Thai Foods, JARQ 45 (2): 211 – 218.

Vipa Surojanametakul, Prajongwate Satmalee, Janpen Saengprakai, Dalad Siriwan and Ladda Wattanasiritham. 2010. Preparation of Curcuminoid Powder from Turmeric Root. (*Curcuma longa* Linn) for Food Ingredient Use, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 44: 123 – 130.

Yaovadee Cuptapun, Duangchan Hengsawadi, Wanpen Mesomya, Pongsri Jittanoonta, Jaroowan Siripanporn and Janpen Saengprakai 2007. Study on Chemical Composition and Shelf-life of High Calcium and High Fiber of Food Bar Products, In proceeding of The 33th Congress on Science and Technology of Thailand, Walailak University, Nakorn Si Thammarat, Thailand

Saipin Maneepun and Janpen Saksitpitak. 1999. Experimental Studies on Iron Fortification in Thai Fish Sauce and Soy Sauce, *In* proceeding of Regional Conference “Micronutrients: The Current Issues”. Central grand Plaza Hotel, Bangkok, Thailand. p 1-5.

2. นางสาวชมดาว สิกขะมณฑล

หน่วยงาน:
สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ จตุจักร กทม. 10900
โทร. 02 942 8629 ต่อ 823 e-mail: ifrdls@ku.ac.th

ประสบการณ์งานวิจัย

ชมดาว สิกขะมณฑล ไพลิน ผู้พัฒน์ จันทร์เพ็ญ ศักดิ์สิทธิพิทักษ์ จารุวรรณ ศิริพรรณพร 2548 การพัฒนากรรมวิธีการผลิตคุกกี้เห็ดและการทดสอบการยอมรับ. วารสารอาหาร35(4): 293-301

ช่อลัดดา เที่ยงพุก ชมดาว สิกขะมณฑล สิริวัฒนา จิตตรีผล. (2547). การพัฒนาแยมมะละกอเพื่อการค้า. วารสารอาหาร 34 (1)

Suparat Reungmaneepaitoon Chomdao Sikkhamondhol Chawlada Tiangpook. Songklanakarin. 2005. Nutritive improvement of instant fried noodles with oat bran. Journal of Science and Technology 28 (1): 89-97

Chomdao Sikkhamondhol, Chowlada Teanpook, Sumitra Boombumrung, Sirivatana Chittrepol. 2009. Quality of bread with added turmeric(Curcuma longa): powder, essential oil and extracted residues. Asian Journal of Food and Agro-Industry 2(04), 609-701 ISSN 1906-3040

3. รศ.ดร.อภิสิฏฐ์ ศงสะเสน

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

โทรศัพท์ 0-2562-5555 ต่อ 2212, โทรสาร 0-2579-3955 E-mail: fsciass@nontri.ku.ac.th

ประสบการณ์งานวิจัย

Songsasen, A. and Timms, P.L. 2000. Microfibrous solids derived from SiO and form other main group oxide vapours, J.Mater. Chem, , 10: 347-351.

Songsasen, A. and Pairgreethaves, P. 2001. Preparation of carbon nanotubes by nickel catalyzed decomposition of liquefied petroleum gas (LPg). Kasetsart J. (Nat. Sci.) 35 (3): 354-359.

Songsasen, A., Aukrayunyong, P., Bangkedphol, S. and Sasomsap, W. 2002. Determination of selenium in water samples by using a methylene blue kinetic Catalytic Spectrophotometric Method, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 36 (1): 103-109.

Songsasen, A., Bangkedphol, S. and Pornsilapatip, P., 2002. Synchronous fluorescence spectroscopic technique: The tool for rapid identification of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) at sub-ppm level in liquid samples, Kasetsart J. (Nat. Sci.) 36 (3): 267-277.

Songsasen, A. and Poowanathai, N. 2002. Recovery of silver as silver nitrate from waste silver chloride in quantitative analysis laboratory, Kasetsart J. (Nat.Sci.) 36 (4) : 435-440.

Bangkedphol, S. Sakultantimetha, A., Keenan, H.E. and Songsasen, A. 2006. Comparison of the Closed System, Microwave-Assisted Extraction of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from sediments. J. Environ. Sci. Health, Part A, A41(6) : 1105-1116.

Keenan, H.E., Dyer, M., Songsasen, A., Bangkedphol, S. and Homchan, U. 2006. Environmental monitoring of the sediment pollution along the Thal: laos Mekong. J. ASTM, Vol.3, No.7: 3-8.

Satapanajaru, T., Anurakpongsatorn, P., Songsasen, A., Boparai, H. and Park, J. 2006 Using low-cost iron byproducts from automotive manufacturing to remediate DDT, water, air, and soil pollution. 175: 361-374.

Veerachalee, N., Taweema, P. and Songsasen, A. 2007. Complexation and spectrophotometric determination of cobalt(II) ion with 3-(2'-thiazolylazo)-2,6-diaminopyridine. Kasetsart J. (Nat. Sci.), 41(4): 675-680.

Bangkedphol, S.,Keenan, H.E., Davidson, C., Sakultantimetha, A., and Songsasen, A. 2008. Development of a low cost method of analysis for the qualitative and quantitative analysis of butyltins in environmental samples. J. Environ. Sci. Health, Part A, A43(14): 1744-1751.

Sirisaksoontorn, W., Thachepan, S. and Songsasen, A. 2009. Photodegradation of phenanthrene by N-doped TiO_2 photocatalyst. J. Environ. Sci. Health, Part A, 44: 1-6.

Sakultantimetha, A., Bangkedphol, S., Lauhachinda, N., Homchan, U. and Sonsasen A. 2009. Environmental fate and transportation of cadmium, lead and manganese in river environment using EPISUITE program. Kasetsart J. (Nat. Sci.), 43(3): 620-627.

Bangkedphol, S.,Keenan, H.E., Davidson, C., Sakultantimetha, A. and Songsasen, A. 2009. The partition behavior of tributyltin and prediction of environmental fate, persistence and toxicity in aquatic environments. Chemosphere, 77: 1326–1332.

Bangkedphol, S., Keenan, H.E., Davidson, C. Sakultantimetha, A. and Songsasen A. 2010. Development and application of an analytical aethod for the determination of partition coefficients of tributyltin in the forth and clyde canal, glasgow, Scotland**.** J. ASTM Intl, Vol.6, No.7: 3-19.