บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

อาหารไทยเป็นอาหารที่ประกอบด้วยเครื่องเทศ/สมุนไพรหลายชนิด ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญที่บ่งบอกถึงเอกลักษณ์ของอาหารไทย ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ด้านโภชนาการมีความตื่นตัวและให้ความสนใจคุณประโยชน์ของอาหารประจำชาติต่างๆ โดยอาหารไทยเองก็ได้รับความสนใจว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ และอาจมีบทบาทช่วยป้องกันและชะลอการเกิดโรคต่างๆ เนื่องจากองค์ประกอบของอาหารไทยมีพืชผักสมุนไพรรวมทั้งเครื่องเทศเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีสารที่ไม่ใช่สารอาหาร (non-nutrient substances) ซึ่งเป็นสารประกอบทางเคมีที่พืชสร้างขึ้น มีคุณสมบัติเฉพาะตัวและมีความหลากหลาย ได้แก่ อัลคาลอยด์ (alkaloids) น้ำมันหอมระเหย (essential oils) ไกลโคไซด์ (glycosides) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นต้น สารประกอบเหล่านี้ เรียกว่าสารสังเคราะห์จากพืชหรือสารพฤษเคมี (phytochemicals) ปัจจุบันพบว่ามีบทบาทในการป้องกันและรักษาโรคได้ (เกียรติคุณ สุทธจิตต์ และไมตรี สุทธจิตต์, 2548) โดยเฉพาะโรคหัวใจและหลอดเลือด ความดันโลหิตสูง เบาหวาน และมะเร็งบางชนิด นอกจากนี้พบว่าสมุนไพรและเครื่องเทศมีวิตามินเอ อี และซี ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน

เครื่องแกงเป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญในการปรุงอาหาร โดยเครื่องแกงแต่ละชนิดมีเอกลักษณ์เฉพาะตัว ทั้งสี กลิ่นและรสชาติ ส่งผลให้ปัจจุบันมีการพัฒนาเครื่องแกงให้มีความหลากหลายทั้งสูตรและรูปลักษณ์มากขึ้น อีกทั้งมีการผลิตเครื่องแกงสำเร็จรูปเพื่อตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการความสะดวกในการใช้ ง่ายในการปรุงมากขึ้น ประกอบกับกระแสความนิยมการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพของคนทั่วโลก และนโยบายส่งเสริมครัวไทยสู่ครัวโลกของรัฐบาลที่ผ่านมา เป็นแรงผลักดันสำคัญที่ทำให้แนวโน้มการค้าเครื่องแกงของไทยมีทิศทางการขยายตัวเพิ่มขึ้น สอดรับกับจำนวนร้านอาหารไทยในต่างแดนที่เกิดขึ้นทั่วทุกมุมโลก จากจำนวนร้านอาหารประมาณ 6,500 ร้านในปี 2545 เพิ่มขึ้นกว่า 10,000 ร้านในปี 2550 ซึ่งกระจายอยู่ในหลายประเทศ ได้แก่ สหรัฐอเมริกา (ร้อยละ 50) ยุโรป (ร้อยละ 20) ออสเตรเลียและนิวซีแลนด์ (ร้อยละ15) ญี่ปุ่น (ร้อยละ 5) และที่เหลืออีกประมาณร้อยละ 10 กระจายอยู่ในทวีปเอเชีย ตลาดอาหารไทยในต่างประเทศได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก (กองสุขาภิบาลอาหาร สำนักอนามัย, 2552) จากตัวเลขการส่งออก (Table 1) พบว่าเครื่องแกงสำเร็จรูปของไทยในช่วงปี 2548 เติบโตจากปี 2547 มากถึงร้อยละ 29.27 นอกจากนี้พบว่า

ความนิยมบริโภคอาหารไทยส่งผลให้เครื่องแกงไทยมีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นจากปี 2551 มูลค่าการส่งออก 1,089.49 ล้านบาท เพิ่มขึ้นจากปี 2550 ร้อยละ 23.28 เครื่องแกงสำเร็จรูปที่เป็นที่นิยมส่วนใหญ่จะบรรจุแบบซอง เพื่อความสะดวกในการปรุงและเหมาะสมต่อการบริโภคหนึ่งครั้ง ซึ่งไม่เฉพาะการผลิตเพื่อการส่งออกเท่านั้น เครื่องแกงแบบปรุงสำเร็จยังสะดวกเหมาะสำหรับครอบครัวยุคใหม่ที่มีเวลาประกอบอาหารน้อยแต่ยังได้รสชาติแกงแบบดั้งเดิม (ศูนย์อัจริยะเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร, 2552)

Table 1. Exporting values of curry paste of Thailand

Country	Values (million baht)				
	2544	2545	2546	2547	2548
U.S.A.	126.00	133.12	144.19	162.24	213.04
Australia	103.12	114.61	131.55	128.79	164.81
Japan	58.57	70.02	69.40	76.56	85.35
United Kingdom	74.31	77.75	77.49	68.89	86.92
Germany, Federal Republic	21.86	25.35	31.10	63.13	78.07
Netherlands (Holland)	21.56	25.71	29.23	40.46	72.70
Canada	21.60	26.04	23.38	33.20	37.73
France	12.36	16.66	19.67	24.97	27.91
Sweden	9.73	14.58	16.17	24.10	41.83
Switzerland	17.91	15.45	14.44	16.60	13.54
Other	86.91	90.57	97.15	110.04	275.04
Total	553.93	609.85	653.76	748.97	968.18

ที่มา: ฐานข้อมูลสถาบันอาหารและกรมศุลกากร (อ้างโดยธีวินท์ นฤนาท, 2548)

ต้มข่าเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ โดยเป็นอาหารที่ได้รับความนิยมเป็นอันดับ 6 (สมาคมภัตตาคารไทย, 2550) เมื่อพิจารณาถึงส่วนประกอบของต้มข่า ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด พบว่าเครื่องเทศและสมุนไพรเหล่านี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์และต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่าพืชสมุนไพรดังกล่าวมีคุณสมบัติในการรักษาโรคได้ เช่น ชาวจีนใช้ข่าเป็นยาเจริญอาหาร ชาวไทยใช้ข่าเป็นยาขับลม ยาบรรเทาอาการท้องอืดท้องเฟ้อ ต้านยีสต์ราและอาการคัน (Matsuda

et al., 2003a) ซึ่งจากรายงานระบุว่าในข่ามีสาร 1′S-1′-acetoxychavicol acetate ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ยับยั้งการอักเสบ ยับยั้งยีสต์รา ยับยั้งแผลในกระเพาะอาหาร (Matsuda *et al*., 2003a) ส่วนตะไคร้ มีฤทธิ์ในการลดการจุกเสียดแน่นท้อง ฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย ยีสต์และรา บรรเทาอาการปวดในหนูถีบจักรที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดความเจ็บปวดด้วยความร้อน (Viana *et al*., 2000)

แต่อย่างไรก็ตาม สารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากเครื่องเทศสามารถสูญเสียหรือเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากกระบวนการแปรรูปต่างๆ ได้แก่ การสเตอไรซ์ (sterilization) การพาสเจอไรซ์ (pasteurization) กระบวนการกำจัดน้ำออก (dehydration) รวมถึงในระหว่างการเก็บรักษาและการจัดการของผู้บริโภคและการปรุงเป็นอาหาร (Nicoli *et al*., 1997) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชในระหว่างการประกอบอาหาร (Gazzani *et al*., 1998) ดังนั้น การศึกษาสมบัติการต้านออกซิเดชันและปัจจัยบางประการที่มีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องต้มข่าจึงเป็นสิ่งที่จำเป็นยิ่งเพื่อเป็นข้อมูลประโยชน์ของสารพฤษเคมีที่จะได้รับจากต้มข่าและเพื่อให้ต้มข่าเป็นอาหารประจำชาติที่ได้รับความนิยมต่อไป

การตรวจเอกสาร

1. การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสามารถพบได้ในอาหารหรือสารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ อัตราเร็วของปฏิกิริยาแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดและองค์ประกอบของไขมัน และสภาพการเก็บรักษา

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน เป็นปฏิกิริยาที่มีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย สี กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (Shahidi *et al.,* 1992) โดยการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอาจเกิดขึ้นเอง เรียกว่า ปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (auto-oxidation) ซึ่งเป็นจุดเริ่มต้นของการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป กลไกการเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันมี 3 ขั้นตอน (Figure 1) (Jadhav *et al.,* 1995) คือ

1.1 ขั้นตอนการเหนี่ยวนำ (initiation) เป็นระยะเริ่มต้นของปฏิกิริยา โดยที่กรดไขมันแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระ ซึ่งมีแสง อุณหภูมิ หรือโลหะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการที่ 1

$$LH + \text{initiator} \longrightarrow L^{\bullet} + H \qquad \ldots (1)$$

1.2 ขั้นตอนการเพิ่มจำนวน (propagation) เป็นระยะการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องของอนุมูลอิสระที่ได้จากขั้นตอนการเหนี่ยวนำ ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเกิดเป็นอนุมูลเพอร์ออกซี (peroxy radical) ซึ่งสามารถดึงไฮโดรเจนจากกรดไขมันเกิดเป็นไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และไฮโดรเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น สามารถแตกตัวเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ถ้ามีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ความร้อนและแสง อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันเกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ซึ่งจะเกิดเป็นลูกโซ่ปฏิกิริยาต่อเนื่องไปเรื่อยๆ ดังสมการที่ 2-6

$$L^{\bullet} + O_2 \longrightarrow LOO^{\bullet} \qquad \ldots (2)$$

$$LOO^{\bullet} + LH \longrightarrow LOOH + L^{\bullet} \qquad \ldots (3)$$

$$LOOH \longrightarrow LO^{\bullet} + {}^{\bullet}OH \qquad \ldots (4)$$

$$LO^{\bullet} + LH \longrightarrow LOH + L^{\bullet} \qquad \ldots (5)$$

$${}^{\bullet}OH + LH \longrightarrow H_2O + L^{\bullet} \qquad \ldots (6)$$

1.3 ขั้นตอนสิ้นสุด (termination) เป็นระยะที่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระทั้งหมดที่เกิดขึ้นรวมทั้งอนุมูลเพอร์ออกซี จะรวมตัวกันแล้วเกิดเป็นสารประกอบที่คงตัว ไม่เหนี่ยวนำปฏิกิริยาต่อไป ดังสมการที่ 7-9

$$L^{\bullet} + L^{\bullet} \longrightarrow L\text{-}L \quad \ldots (7)$$

$$L^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOL \quad \ldots (8)$$

$$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOOL + O_2 \quad \ldots (9)$$

เมื่อถึงระยะสิ้นสุดจะมีสารประกอบไฮโดรเพอร์ออกไซด์สะสมในระบบจำนวนมาก โดยปกติไฮโดรเพอร์ออกไซด์เป็นสารที่ไม่เสถียร สามารถสลายตัวทำให้ได้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง เช่น คีโตน อัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ สารเหล่านี้สามารถระเหยและทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเกิดกลิ่นหืน

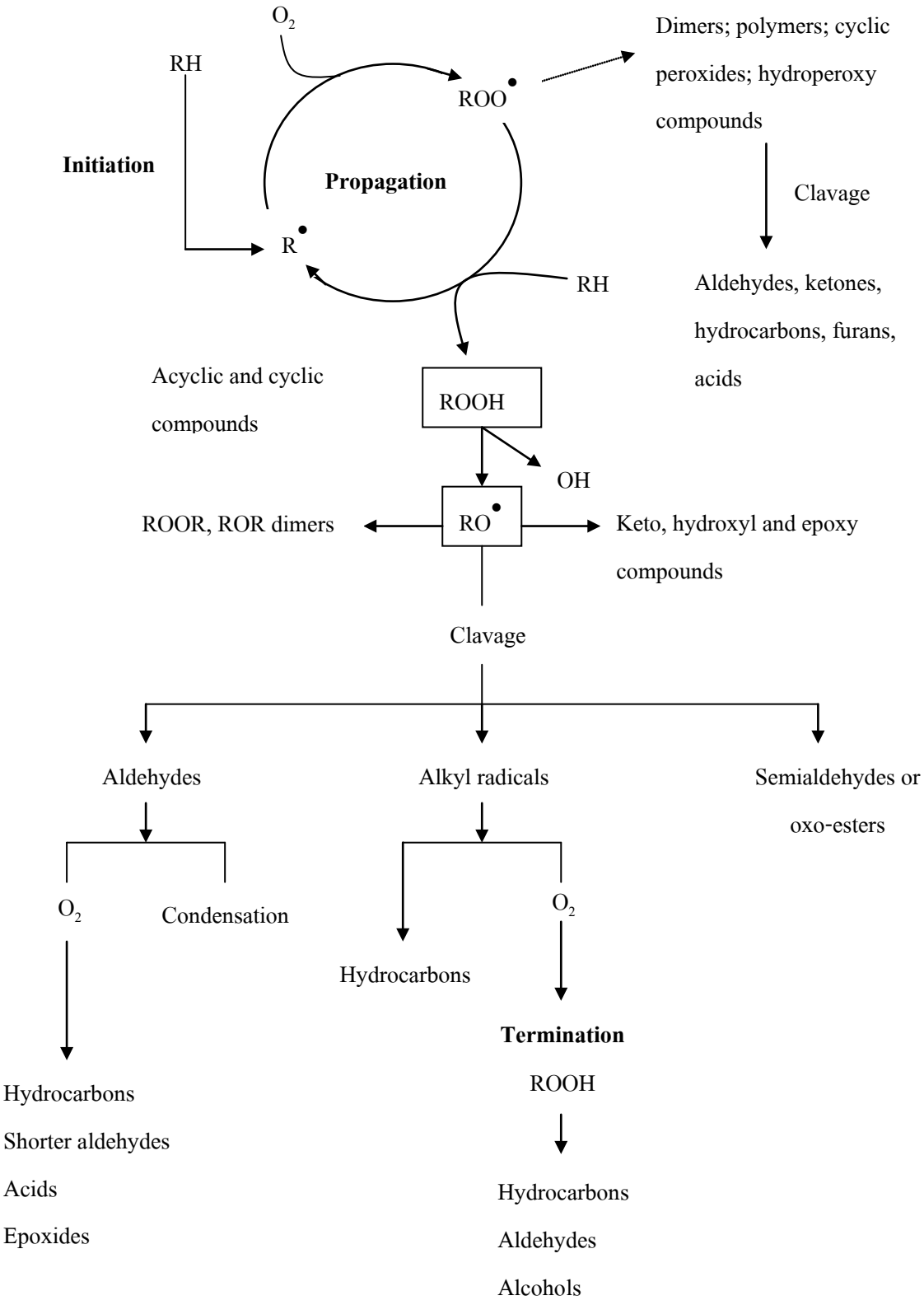


Figure 1. Generalized scheme for auto-oxidation of lipids

ที่มา: ดัดแปลงจาก Nawar (1996)

2. ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

2.1 องค์ประกอบของกรดไขมัน ชนิดและปริมาณกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว ถ้าระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันเพิ่มขึ้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดไฮโดรเพอร์ออกไซด์จากกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป ต้องการพลังงานกระตุ้นต่ำ ส่งผลให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเร็วขึ้น โดยทั่วไปพันธะคู่แบบคอนจูเกต (การเกิดพันธะเดี่ยวสลับกับพันธะคู่) สามารถเกิดปฏิกิริยาได้ดีกว่าพันธะคู่ชนิดอื่น และกรดไขมันที่อยู่ในรูปอิสระจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่ายกว่าไขมันที่อยู่ในรูปเอสเทอร์ (Nawar, 1996)

2.2 ออกซิเจน เป็นองค์ประกอบที่สำคัญต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน สามารถทำปฏิกิริยากับพันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว และในสภาวะที่มีออกซิเจนและมีแสง เหล็กที่มีในฮีม (heme iron) และคลอโรฟิลล์ (chlorophylls) สามารถเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันได้รวดเร็วยิ่งขึ้น (Nakatami and Ikeda, 1984)

2.3 ความร้อน มีบทบาทสำคัญในการเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน โดยปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นได้เร็วที่อุณหภูมิสูง (Nawar, 1996) ดังนั้นการเก็บอาหารในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำสามารถลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาได้ (Jadhav *et al.,* 1995)

2.4 แสงสว่าง ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อระบบสัมผัสกับแสง (Nawar, 1996)

2.5 โลหะ โลหะทรานซิชันที่มีวาเลนซี 2-3 และมีศักยภาพในการเป็นทั้งตัวรับหรือให้อิเล็คตรอน เช่น โคบอลท์ (Co) เหล็ก (Fe^{2+} หรือ Fe^{3+}) ทองแดง (Cu^{+} หรือ Cu^{2+}) แมงกานีส (Mn) และนิกเกิล (Ni) เป็นต้น เป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นโปรออกซิแดนท์ โดยอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเพิ่มสูงขึ้น แม้มีเหล็กหรือทองแดงเพียง 0.1 ส่วนในล้านส่วน กลไกการทำงานของโลหะมีหลายแบบ ดังสมการที่ 10-13

- เร่งการแตกตัวของไฮโดรเพอร์ออกไซด์

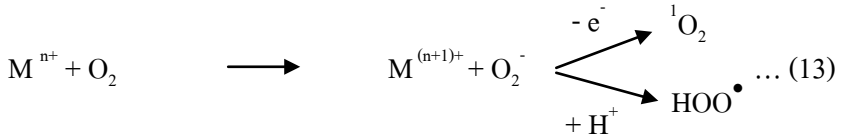
$$M^{n+} + LOOH \longrightarrow M^{(n+1)+} + OH^{-} + LO^{\bullet} \quad \ldots (10)$$

$$M^{(n+1)+} + LOOH \longrightarrow M^{(n)+} + H^{+} + LOO^{\bullet} \quad \ldots (11)$$

- ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น

$$M^{(n+1)+} + LH \longrightarrow M^{(n)+} + H^{+} + L^{\bullet} \quad \ldots (12)$$

- กระตุ้นโมเลกุลของออกซิเจนให้เกิดเป็นซิงเกลทออกซิเจน (singlet oxygen) และอนุมูลเพอร์ออกซี



… (13)

2.6 ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่

2.6.1 ความชื้นหรือค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (a_w) มีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในอาหารแห้งที่มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำ (a_w < 0.1) ปฏิกิริยาออกซิเดชันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่เมื่อค่าวอเตอร์แอกติวิตี้เพิ่มขึ้นเป็น 0.3 สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำ เนื่องจากที่วอเตอร์แอกติวิตี้เท่ากับ 0.3 น้ำในอาหารอยู่ในรูปของโมโนเลเยอร์ (monolayer) ทำให้กิจกรรมการเร่งปฏิกิริยาของโลหะลดลง เนื่องจากการเกิดไฮเดรชัน (hydration) ของโลหะ (O′Connor and O′Brien, 2006) น้ำจับกับอนุมูลอิสระ (quenching free radicals) และ/หรือป้องกันการสัมผัสของออกซิเจนกับไขมัน อย่างไรก็ตาม เมื่อค่าวอเตอร์แอกติวิตี้สูงขึ้น (a_w = 0.55-0.85) อัตราการเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากเกิดการเคลื่อนที่ของตัวเร่งปฏิกิริยาและออกซิเจนได้ง่ายขึ้น (Nawar, 1996)

2.6.2 ตัวเร่งชีวภาพ จัดเป็นสารเร่งปฏิกิริยาที่มีอยู่ตามธรรมชาติในอาหาร ได้แก่ เอนไซม์ไลพอกซีจีเนส (lypoxygenase, LOX) ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (polyunsaturated fatty acid) เนื่องจากภายในโมเลกุลของเอนไซม์ชนิดนี้ประกอบด้วยเหล็ก 1 อะตอมที่อยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+}) เป็นส่วนประกอบอยู่ ซึ่งถูกออกซิไดส์ให้อยู่ในรูปของเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) ได้ โดยไฮโดรเพอร์ออกไซด์ของกรดไขมัน (fatty acid hydroperoxides) หรือไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ เกิดเป็น LOX-Fe^{3+} เอนไซม์ไลพอกซีจีเนสเข้าทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยไฮโดรเจนจากหมู่เมธิลีน (methylene) ในกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะถูกดึงออกไป และเฟอร์ริกไอออนของเอนไซม์จะถูกรีดิวซ์กลับมาอยู่ในรูปของเฟอร์รัสไอออน เกิดเป็น enzyme-alkyl radical (LOX-Fe^{2+}-$R^{\bullet}$) ที่สามารถถูกออกซิไดส์ได้โดยออกซิเจนให้อยู่ในรูปของ LOX-Fe^{2+}-ROO เกิดเป็นวัฏจักรต่อไป ดัง Figure 2 (Gordon, 2001)

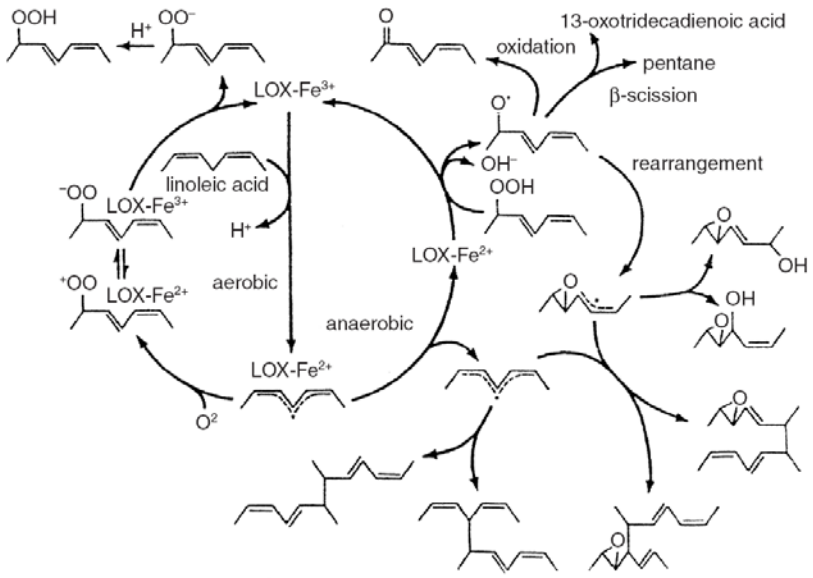


Figure 2. Pathway of lipoxygenase-catalysed oxidation

ที่มา: Gordon (2001)

2.6.3 พื้นที่ผิว อัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเพิ่มขึ้น เป็นสัดส่วนกับพื้นที่ผิวหน้าของไขมันที่สัมผัสกับอากาศ ดังนั้นเมื่อไขมันมีพื้นที่ผิวมากขึ้นอัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น (Nawar, 1996)

3. ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อร่างกายและในอาหาร

3.1 ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย

อนุมูลอิสระเป็นสารที่มีอิเล็คตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุล ในวงจรดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจน จะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจน อย่างเช่น อนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radical, $^{\bullet}OH$) ซุปเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion, $O_2^{\bullet-}$) อนุมูลอิสระไฮโดรเพอร์ออกซิล (hydroperoxyl radical, $HOO^{\bullet}$) และอนุมูลอิสระแอลคอกซิล (alkoxyl radical, $RO^{\bullet}$) (Table 2) เป็นต้น ซึ่งเป็นผลพลอยได้ จากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) ต่างๆของเซลล์ (Figure 3) เกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV-ray) โอนโซน (ozone) ควันจากท่อไอเสียรถยนต์และควันบุหรี่ เป็นต้น ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการก่อตัวของอนุมูลอิสระเหล่านี้เพิ่มขึ้นได้อีกด้วย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่มีความไม่คงตัวและไวต่อการทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล ซึ่งจัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง (reactive oxygen species, ROS) ที่มีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาสูงสุด (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ยังผลให้เกิด

Table 2. Production of active oxygen species

Active oxygen species	Formation
Superoxide ($O_2^{\bullet-}$)	Enzymatic and non-enzymatic one electron reduction of oxygen
(Hydroperoxyl redical) ($HO_2^{\bullet}$)	$O_2 + e \longrightarrow O_2^{\bullet-} \longleftrightarrow HO_2^{\bullet}$ (pK=4.8)
Hydroxyl radical ($OH^{\bullet}$)	Radiolysis of water, metal-catalyzed decomposition of hydrogen peroxide, interaction of NO and superoxide $NO + O_2^{\bullet-} \longrightarrow ONOO^- \xrightarrow{H^+} HO^{\bullet} + NO_2$
Alkoxyl and peroxyl radicals ($LO^{\bullet}$, $LO_2^{\bullet}$)	Metal-catalyzed decomposition of hydroperoxides
Hydrogen peroxide (H_2O_2)	Dismutation of superoxide, oxidation of sugars
Iron-oxygen complex (Fe=O, etc)	Hemoglobin, myoglobin, etc.
Singlet oxygen ($^1O_2$)	Photosensitized oxidation, bimolecular interactions between peroxyl radicals, reaction of hypochlorite and hydrogen peroxside
Lipid and protein hydroperoxides	Oxidation of lipids and proteins
Nitrogen dioxide ($NO_2^{\bullet}$)	Reaction of peroxyl radical and NO, polluted air and smoking
Nitric oxide ($NO^{\bullet}$)	Nitric oxide synthase, nitroso thiol, and polluted air
Thiyl radical ($RS^{\bullet}$)	Hydrogen atom transfer from thiol
Protein radical	Hydrogen atom transfer from protein

ที่มา: Noguchi และ Niki (1999)

ความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกาย (Figure 3) ได้แก่

3.1.1 ดีเอ็นเอ (DNA) อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับน้ำตาลดีออกซีไรโบส (deoxyribose) และเบส (base) ในโครงสร้างของดีเอ็นเอ ทำให้ดีเอ็นเอเกิดการแตกหักเป็นท่อน และเปลี่ยนโครงสร้างของเบส ส่งผลเสียหายต่อข้อมูลพันธุกรรม (genetic information) เมื่อเซลล์ใช้ข้อมูลนี้สร้างโปรตีน จะได้โปรตีนที่ทำหน้าที่ผิดไปจากเดิมหรือสูญเสียหน้าที่ เซลล์ที่แข็งแรงจะซ่อมแซมดีเอ็นเอได้ แต่ถ้าดีเอ็นเอชำรุดมากจนเกิดขีดสมรรถนะการซ่อมแซมของเซลล์ ก็จะทำให้เซลล์ตายหรืออาจทำให้ข้อมูลพันธุกรรมเกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างถาวร คือเกิดการกลายพันธุ์ (mutation) นำไปสู่โรคมะเร็ง (สุพร นุชดำรงค์, 2549)

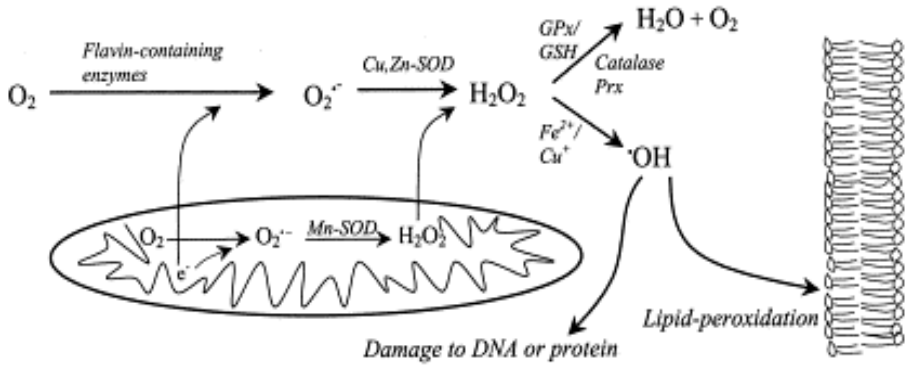


Figure 3. Simplified nonstoichiometric scheme of oxidative and antioxidative system in living cells

ที่มา: Nordberg และ Arner (2001)

3.1.2 โปรตีน อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโน ทำให้เกิดการดัดแปลงหมู่ฟังก์ชันที่สำคัญบางตำแหน่งในโครงสร้าง ทำให้โปรตีนขาดความสามารถในการทำหน้าที่ ทำลายพันธะเปปไทด์ (สุพร นุชดำรงค์, 2549) หรือทำให้โปรตีนหลายโมเลกุลสร้างพันธะโควาเลนต์ยึดกันอย่างถาวรผิดไปจากธรรมชาติ (วัลยา เนาวรัตน์วัฒนา และพัชรี บุญศิริ, 2542)

3.1.3 ลิพิดชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated lipids) อนุมูลอิสระเข้าทำปฏิกิริยาตรงตำแหน่งพันธะคู่ของโมเลกุลของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เมื่อโครงสร้างของลิพิดเสียไป จึงมีผลกระทบทั้งหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ในการลำเลียงสารผ่านเข้า-ออกและหน้าที่ของเอนไซม์ที่ฝังตัวอยู่บนเยื่อหุ้มเซลล์ และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระกับไขมัน ได้แก่ อัลดีไฮล์โมเลกุลเล็กๆ สามารถทำปฏิกิริยากับกรดอะมิโนส่งผลต่อโครงสร้างและหน้าที่ของโปรตีน นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังเปลี่ยนลิพิดเป็นลิพิดไฮโดรเพอร์ออกไซด์ (lipid hydroperoxide) ซึ่งจะถูกไอออนของโลหะเร่งให้เปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระของลิพิดเพอร์ออกไซด์ โดยลิพิดเพอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรกว่าและส่งผลเสียเรื้อรังแก่เซลล์ (สุพร นุชดำรงค์, 2549)

3.2 ความสำคัญของปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร

ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ อาจเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตหรือการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เนื่องจากอาหารสัมผัสกับอากาศ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นส่งผลต่อคุณภาพของอาหาร ทำให้อาหารเกิดกลิ่นหืนและรสชาติเปลี่ยน (Shahidi *et al*., 1992) การเกิดปฏิกิริยาออโตออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติและองค์ประกอบของอาหาร ได้แก่ การเปลี่ยนแปลงสี ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รส ทำให้คุณค่าของอาหารลดลง โดยทำให้เกิดการสลายตัวของวิตามินและเกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน

การหืนของอาหารหรือผลิตภัณฑ์ อาจมีผลมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือไฮโดรไลซิสของไขมัน

การหืนแบบไฮโดรไลซิส ไขมันและน้ำมันเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสแล้วจะทำให้เกิดกลิ่นรสผิดไป การสลายตัวของไขมันและน้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง จะเกิดได้มากกว่าในไขมันหรือน้ำมันที่มีน้ำหนักโมเลกุลที่ต่ำกว่า นอกจากนี้เอนไซม์ในพืชและสัตว์หรือจากจุลินทรีย์ที่มีการปนเปื้อน สามารถเร่งการผลิตกรดไขมันอิสระและเร่งการหืนได้ การสลายตัวของไขมันอาจเกิดขึ้นโดยไม่ต้องอาศัยเอนไซม์ก็ได้ แต่ปฏิกิริยาเกิดช้าที่อุณหภูมิต่ำ

การหืนเนื่องจากออกซิเดชัน (oxidation rancidity) สามารถเกิดขึ้นเองเมื่ออาหารหรือผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันไม่อิ่มตัวเป็นองค์ประกอบมีการสัมผัสกับอากาศ อัตราที่เกิดขึ้นมีความแตกต่างกันไปตามลักษณะชนิดของไขมันและสภาพแวดล้อมในการเก็บรักษา ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาการหืนแบบออกซิเดชันคือปริมาณออกซิเจน ปริมาณความไม่อิ่มตัวของไขมันที่เป็นองค์ประกอบ วัตถุกันหืนที่มีการเติมลงไป โลหะหรือสารเร่งการเกิดปฏิกิริยา ได้แก่ ทองแดง เหล็ก เอนไซม์ไลพอกซิจีเนสและเกลือบางชนิด กระบวนการหรือกรรมวิธีในการผลิต ภาชนะที่ใช้บรรจุ การสัมผัสกับแสงหรืออากาศและอุณหภูมิ และยังมีรงควัตถุบางชนิดที่สามารถเร่งการเกิดออโตออกซิเดชันได้ เช่น คลอโรฟิลล์และแคโรทีนอยด์ เมื่อผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีการสัมผัสกับแสง

4. สารต้านออกซิเดชัน (antioxidant)

4.1 คำนิยามของสารต้านออกซิเดชัน

สารต้านออกซิเดชันคือสารประกอบที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันอาจเป็นวิตามิน เกลือแร่ ฮอร์โมน โปรตีนหรือเอนไซม์ก็ได้ (Crawford, 2000)

4.2 บทบาทของสารต้านออกซิเดชัน

มีงานวิจัยจำนวนมากที่บ่งชี้ว่า สารต้านออกซิเดชันสามารถลดความเสี่ยงต่อโรคหลายโรค โดยเฉพาะโรคเรื้อรังที่สัมพันธ์กับอาหาร เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง เช่น อัลไซเมอร์ เป็นต้น รวมทั้งช่วยชะลอกระบวนการบางขั้นตอนที่ทำให้เกิดความแก่ ถึงแม้ว่าสารต้านออกซิเดชันไม่สามารถแก้ไขความเสียหายที่เกิดขึ้นแล้ว แต่สามารถชะลอให้ความเสียหายเกิดช้าลงได้ โดยเฉพาะโรคเรื้อรังซึ่งเป็นผลลัพธ์สะสมที่เกิดจากเซลล์และเนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำอันตรายและเสียหายเป็นเวลานาน ดังนั้น บุคคลทุกเพศทุกวัยจึงควรได้รับสารต้านออกซิเดชันให้พอเพียงต่อความต้องการในแต่ละวัน เพื่อให้เกิดความสมดุลในร่างกายระหว่างสารต้านออกซิเดชันและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น (ศรีวัฒนา ทรงจิตสมบูรณ์และคณะ, 2548)

ผู้บริโภคควรบริโภคผลิตภัณฑ์ออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอย่างเพียงพอ การบริโภคมากเกินไป อาจส่งผลลดปริมาณของอนุมูลอิสระจนต่ำกว่าระดับซึ่งจำเป็นต่อร่างกาย อนุมูลอิสระมีประโยชน์ต่อร่างกายคือ ช่วยป้องกันการติดเชื้อ โดยเซลล์เม็ดเลือดขาวจะใช้อนุมูลอิสระฆ่าเชื้อแบคทีเรียหลังจากเซลล์เม็ดเลือดขาวกิน (phagocytosis) แบคทีเรียเข้าไปแล้ว (วัชรี หาญยิ่ง, 2549) นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันบางชนิดมีคุณสมบัติเป็นสารโปรออกซิเดนซ์ (pro-oxidant) โดยในบางสภาวะจะกลายเป็นตัวเหนี่ยวนำให้ระดับอนุมูลอิสระในร่างกายเพิ่มสูงขึ้น จนส่งผลร้ายต่อเซลล์และร่างกาย (สุพร นุชดำรงค์, 2549) Polozza (1998) พบว่าการให้หนูรับประทานเบต้าแคโรทีน (β-carotene) ในปริมาณที่มากเกินพอ ทำให้ตับ ไตและสมองของหนูเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation) เพิ่มขึ้น ผลของการรับประทานเบต้าแคโรทีนต่อร่างกายแสดงดัง Figure 4 นอกจากนี้ Iwahashi และคณะ (1989 อ้างโดย Dumri, 2001) พบว่ากรดคาฟเฟอิค (caffeic acid) และกรดคลอโรจีนิค (chlorogenic acid) กระตุ้นให้เกิดการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล เนื่องจากกรดคาฟเฟอิคและกรดคลอโรจีนิคไปรีดิวซ์เฟอร์ริคไอออนเป็นเฟอร์รัสไอออน ดังสมการที่ 14-15 อนุมูลอิสระไฮดรอกซิลที่เกิดขึ้น เป็นอนุมูลอิสระที่มีพลังการทำลายสูง (Halliwell, 1999) สามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น ทำให้องค์ประกอบต่างๆของเซลล์ภายในร่างกายเกิดความเสียหาย

$$Fe^{3+} + \text{caffeic acid} \longrightarrow Fe^{2+} + \text{caffeic acid radical} + H^{+} \quad \ldots (14)$$

$$H_2O_2 + Fe^{2+} \longrightarrow {}^{\bullet}OH + OH^{-} + Fe^{3+} \quad \ldots (15)$$

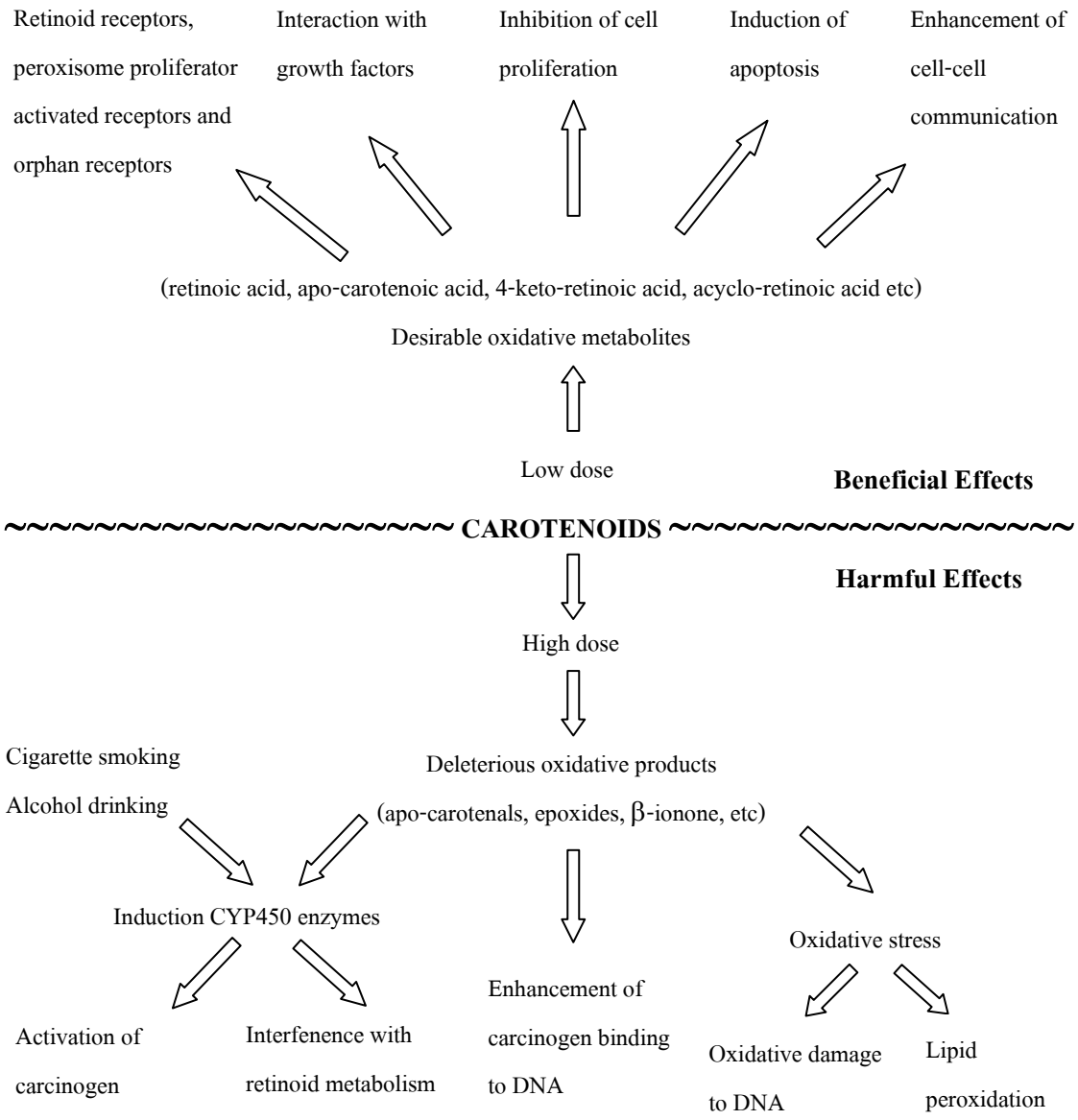


Figure 4. Simplified schematic illustration of possible mechanism(s) of carotenoids and their oxidative metabolites on their beneficial and detrimental effects to human health

ที่มา: Wang (2004)

จากรายงานทางการแพทย์พบว่าการรับประทานผัก ผลไม้หรืออาหารที่มีสารต้านออกซิเดชัน สามารถลดความเสี่ยงต่อการเป็นมะเร็งได้ดีกว่าการรับประทานสารต้านออกซิเดชันโดยตรง (วัชรี หาญยิ่ง, 2549)

4.3 แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ (บรรจบ ชุณหสวัสดิกุล, 2544; เสก อักษรานุเคราะห์, 2546)

4.3.1 สารต้านอนุมูลอิสระที่มีในร่างกาย

4.3.1.1 เอนไซม์ (enzymes) และโคเอนไซม์ (coenzymes)

- ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) อยู่ในไซโทซอล (cytosol) และไมโตคอนเดรีย (mitochondria) ทำหน้าที่รีดิวซ์ซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออนให้กลายเป็นออกซิเจนและไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ที่มีความว่องไวน้อยกว่า

- คะทะเลส (catalase) พบอยู่ในเพอร์ออกซิโซม (peroxisomes) ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่มีในปริมาณที่สูง โดยมีประสิทธิภาพสูงมากในการเปลี่ยนไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและโมเลกุลออกซิเจน

- กลูทาไธโอนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) พบอยู่ในไซโทซอลและไมโตคอนเดรีย ทำหน้าที่กำจัดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์

- กลูทาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase) เป็นฟลาโวโปรตีนออกซิโดรีดัคเทส (flavoprotein oxidoreductase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนออกซิไดซ์กลูทาไธโอน (oxidized glutathione, GSSG) เป็นรีดิวซ์กลูทาไธโอน (reduced glutathione, GSH)

- กลูทาไธโอนทรานส์เฟอเรส (glutathione transferase) ทำหน้าที่กำจัดลิพิดไฮโดรเพอร์ออกไซด์

- โคเอนไซม์คิวเท็น (coenzyme Q 10) เป็นสารที่ร่างกายสามารถผลิตได้เอง มีคุณสมบัติคล้ายวิตามิน ละลายในไขมัน พบอยู่ที่เยื่อหุ้มเซลล์ของไมโตคอนเดรีย สามารถดักจับอนุมูลอิสระ ช่วยยับยั้งคอเลสเตอรอลไม่ให้จับตัวที่ผนังหลอดเลือด

4.3.1.2 โปรตีน (proteins)

- กลูทาไธโอน (glutathione) เป็นไตรเปปไทด์ ประกอบด้วยกรดอะมิโนกลูทามีน ซีสเทอีน และไกลซีน (L-γ-glutamyl-L-cysteinylglycine) หมู่ไธออล (thiol) ของซีสเทอีนเป็นส่วนที่มีบทบาทสำคัญในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน เนื่องจากสามารถให้อิเล็คตรอน (electron donating capacity) แก่อนุมูลอิสระ

- กรดไลโพอิค (lipoic acid) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมัน สามารถดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้ดี

- เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) เป็นโปรตีนที่มีไอออนทองแดงอยู่ในโมเลกุล (copper containing protein) มีสมบัติเป็นเอนไซม์เฟอร์ริคออกซิเดส (ferricoxidase) ซึ่งทำหน้าที่ออกซิไดส์เฟอร์รัสไอออนเป็นเฟอร์ริคไอออน เป็นการส่งเสริมให้เหล็กรวมเข้าไปในโมเลกุลของโปรตีนเฟอริตินได้เซอรูโลโปรตีน

- อัลบูมิน (albumin) เป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พบมากในพลาสมา โดยโปรตีนอัลบูมินสามารถเข้าจับกับไอออนทองแดงได้อย่างรวดเร็ว จึงเป็นการขับไล่ไอออนทองแดงทางอ้อม เป็นผลให้อนุมูลอิสระเกิดขึ้นน้อยลง

- ทรานส์เฟอริน (transferrin) เป็นไกลโคโปรตีนที่พบในพลาสมา ทำหน้าที่ขนส่งเหล็ก (iron transporting protein) และมีบทบาทในการเป็นสารต้านออกซิเดชันร่วมกับโปรตีนเฟอริติน

- เฟอริติน (ferritin) เป็นโปรตีนที่ทำหน้าที่สะสมเหล็ก เฟอริตินที่พบในพืช เรียกว่า ไฟโทเฟอร์ริทิน (phytoferritin) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมพบเฟอริตินสะสมในส่วนของไซโตซอลและพบเล็กน้อยในซีรัม

- เมทัลโลไธโอนีน (metallothionein) เป็นโปรตีนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีซีสเทอีนเป็นองค์ประกอบจำนวนมาก

- แฮพโทโกลบิน (haptoglobin) สร้างมาจากเซลล์พาเรนไคมอล (parenchymal cell) ในตับ ทำหน้าที่จับฮีโมโกลบินอิสระ (free hemoglobin)

- ฮีโมเพกซิน (heamopexin) เป็นพลาสมาโปรตีน (plasma protein) ทำหน้าที่จับฮีม (heme)

- ไบลิรูบิน (bilirubin) เป็นสารที่มีสีเหลืองแดง (reddish yellow) เกิดจากกระบวนการสลายฮีม เป็นสารต้านออกซิเดชันที่สามารถจับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล

- กรดยูริค (uric acid) เป็นสารที่เกิดจากการย่อยสลายของกรดนิวคลีอิค (nucleic acid) สามารถให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ และจับซิงเกลทออกซิเจน

- ซิสเทอีน (cysteine) เป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลูธาไธโอน

สารต้านออกซิเดชันในร่างกายที่มีความสำคัญคือซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส และกลูทาไธโอน สารต้านออกซิเดชันที่ร่างกายมีอยู่หรือสร้างได้นี้ จะช่วยขจัดอนุมูลอิสระได้มากกว่าร้อยละ 95 ขึ้นไปในสภาวะปกติ ซึ่งปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ร่างกายสร้างได้เองแต่สร้างได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับสุขภาพและการกินอาหารที่เพียงพอและเหมาะสม

4.3.2 สารต้านออกซิเดชันที่มีในอาหาร

4.3.2.1 วิตามินซี

เป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีมากที่สุดตัวหนึ่งในเลือดและเซลล์ เนื่องจากวิตามินซีสามารถละลายได้ในน้ำ จึงดูดซึมเข้าในเซลล์ได้ดี ดังนั้นวิตามินซีจึงป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระทำลายดีเอ็นเอในนิวเคลียสของเซลล์ได้ดีกว่าวิตามินอี สมบัติทางเคมีของวิตามินซีในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคือการที่แอสคอร์เบท (ascorbate, $AscH^-$) ให้อิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ เกิดเป็นแอสคอร์เบทเรดิคอล (ascorbate radical, $Asc^{\bullet-}$) ที่เสถียรมากเนื่องจากมีโครงสร้างที่เป็น

เรโซแนนซ์ (resonance structure) (Figure 5) อนุมูลอิสระที่สามารถรับอะตอมไฮโดรเจนจากวิตามินซีเพื่อทำให้ตัวเองเป็นกลาง ได้แก่ ไฮดรอกซิล แอลคอกซิล และเพอร์ออกซิล รวมทั้งอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระตัวอื่น เช่น กลูทาไธโอน ($^{\bullet}$GS) และวิตามินอีหรือโทโคฟีรอล (tocopherol, $^{\bullet}$Toc) ก็สามารถรับไฮโดรเจนจากวิตามินซีได้

วิตามินซีพบมากในผลไม้ที่มีรสเปรี้ยวและผักที่มีสีเขียว เช่น ส้ม มะนาว มะกรูด สับปะรด สตรอเบอร์รี่ แคนตาลูป มะเขือเทศ ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก อย่างไรก็ตามการหุงต้มทำลายวิตามินซีได้ ดังนั้นจึงควรบริโภคสด

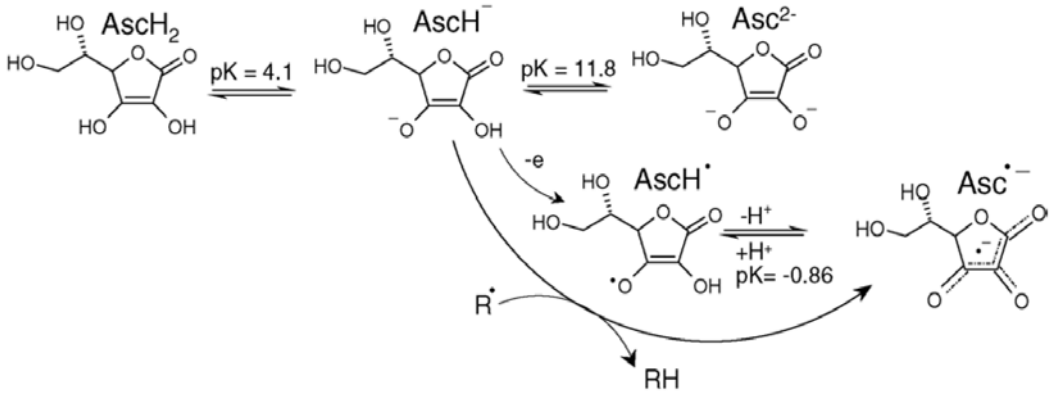


Figure 5. Various forms of ascorbic acid (Vitamin C) and its reaction with radicals ($R^{\bullet}$)
ที่มา: Valko และคณะ (2006)

4.3.2.2 วิตามินอี

เป็นสารต้านออกซิเดชันชนิดละลายในไขมันที่มีมากที่สุดในร่างกาย วิตามินอีที่พบโดยทั่วไปและมีความว่องไวมากที่สุดคืออัลฟาโทโคฟีรอล (α-tocopherol) (Figure 6) ช่วยป้องกันการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนแก่ลิพิดเรดิคอล (lipid radical, $L^{\bullet}$) หรือลิพิดเพอร์ออกซีเรดิคอล และอัลฟาโทโคฟีรอลจะกลายเป็นอนุมูลอิสระที่เสถียรเนื่องจากมีการเคลื่อนที่ (delocalization) ของอิเล็คตรอนในวงแหวนเบนซีน (Figure 7) อัลฟาโทโคฟีรอลเรดิคอลสามารถเปลี่ยนเป็นอัลฟาโทโคฟีรอล โดยการทำปฏิกิริยากับวิตามินซี ดังแสดงใน Figure 8

น้ำมันจากพืชและเมล็ดพืชต่างๆ รวมทั้งจมูกข้าวสาลีเป็นแหล่งของวิตามินอี ในขณะที่ในเนื้อสัตว์ ปลา ผักและผลไม้มีวิตามินอีน้อย

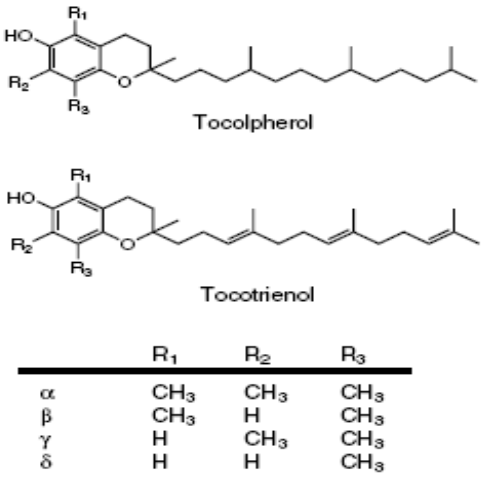


Figure 6. Chemical structures of tocopherols and tocotrienols

ที่มา: Shahidi และ Naczk (2004)

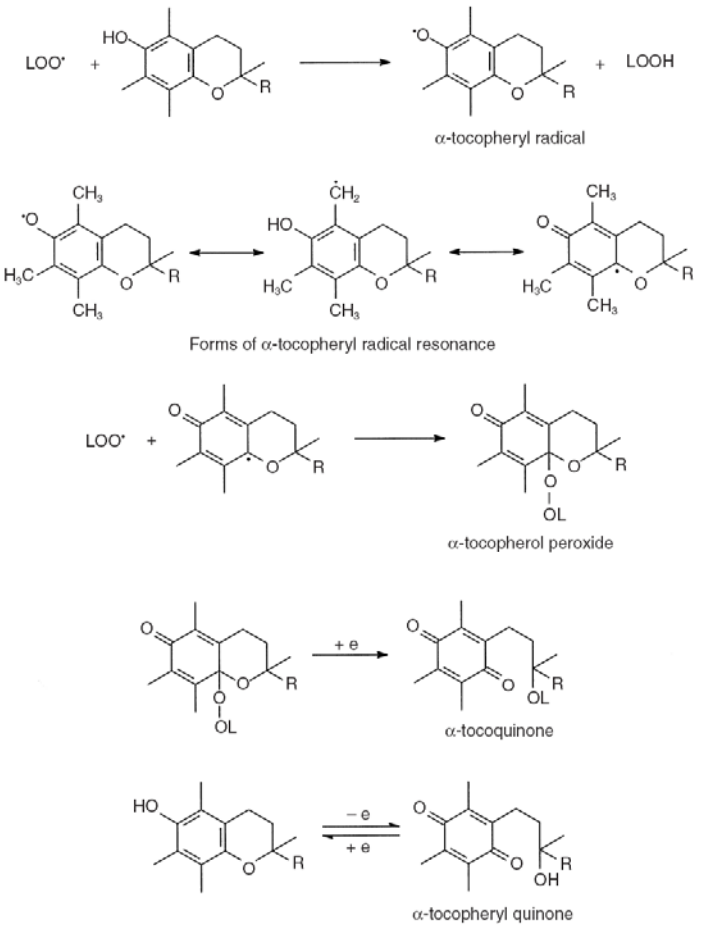


Figure 7. Mechanism of α-tocopherol action

ที่มา: ดัดแปลงจาก Yanishlieva-Maslarova (2001)

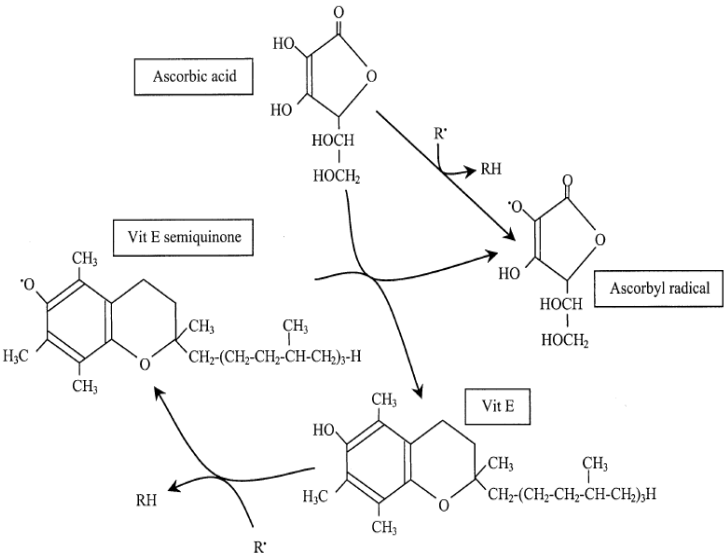


Figure 8. Interplay between vitamin C and vitamin E

ที่มา: ดัดแปลงจาก Nordberg และ Arner (2001)

4.3.2.3 แคโรทีนอยด์

แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุ (pigment) ที่พบในพืชและจุลินทรีย์ มีมากกว่า 6,000 ชนิดในธรรมชาติ เป็นสารสำคัญที่พบในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ของพืช มีบทบาทในการสังเคราะห์แสงเช่นเดียวกับคลอโรฟิลล์ โดยทำหน้าที่ช่วยคลอโรฟิลล์ในการรับพลังงานแสง ผักและผลไม้ที่ยังไม่สุกพบแคโรทีนอยด์น้อยกว่าผักและผลไม้ที่สุกแล้ว เนื่องจากปกติผักใบเขียวหรือผักและผลไม้ที่ยังดิบแคโรทีนอยด์อยู่ในส่วนของคลอโรพลาสต์ ในขณะที่ผักหรือผลไม้สุกแคโรทีนอยด์ถูกสังเคราะห์ขึ้นในโครโมพลาสต์ (chromoplast) เป็นปริมาณมากเนื่องจากเอนไซม์ที่ใช้ในการสังเคราะห์มีมากขึ้น (Tomas-Barberan and Robins, 1997) โครงสร้างพื้นฐานของแคโรทีนอยด์ประกอบด้วยโครงสร้างหลักที่เรียกว่าเทตระเทอร์ปีนสคีเลทอน (tetraterpene skeleton) ซึ่งอาจมีวงแหวนที่บริเวณปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองด้านของโมเลกุล วงแหวนนี้อาจเป็นวงแหวนห้าหรือหกเหลี่ยมก็ได้ ดังแสดงใน Figure 9 แคโรทีนอยด์สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ตามองค์ประกอบของโครงสร้างในโมเลกุล ดังนี้ (Packer *et al*., 1999)

1. แคโรทีน (carotene) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยคาร์บอนและไฮโดรเจนเท่านั้น เช่น เบต้าแคโรทีน (β-carotene) อัลฟาแคโรทีน (α-carotene) แกมมาแคโรทีน (γ-carotene) และไลโคปีน (lycopene) (Figure 9) เป็นต้น

2. ออกโซแคโรทีนอยด์ (oxocarotenoid) หรือแซนโธฟิลล์ (xanthophylls) เป็นแคโรทีนอยด์ที่โครงสร้างโมเลกุลบริเวณวงแหวน ประกอบด้วยกลุ่มอื่นนอกเหนือจากคาร์บอนและไฮโดรเจน เช่น เบต้าคริบโทแซนธิน (β-cryptoxanthin) และลูทีน (lutein) (Figure 9)

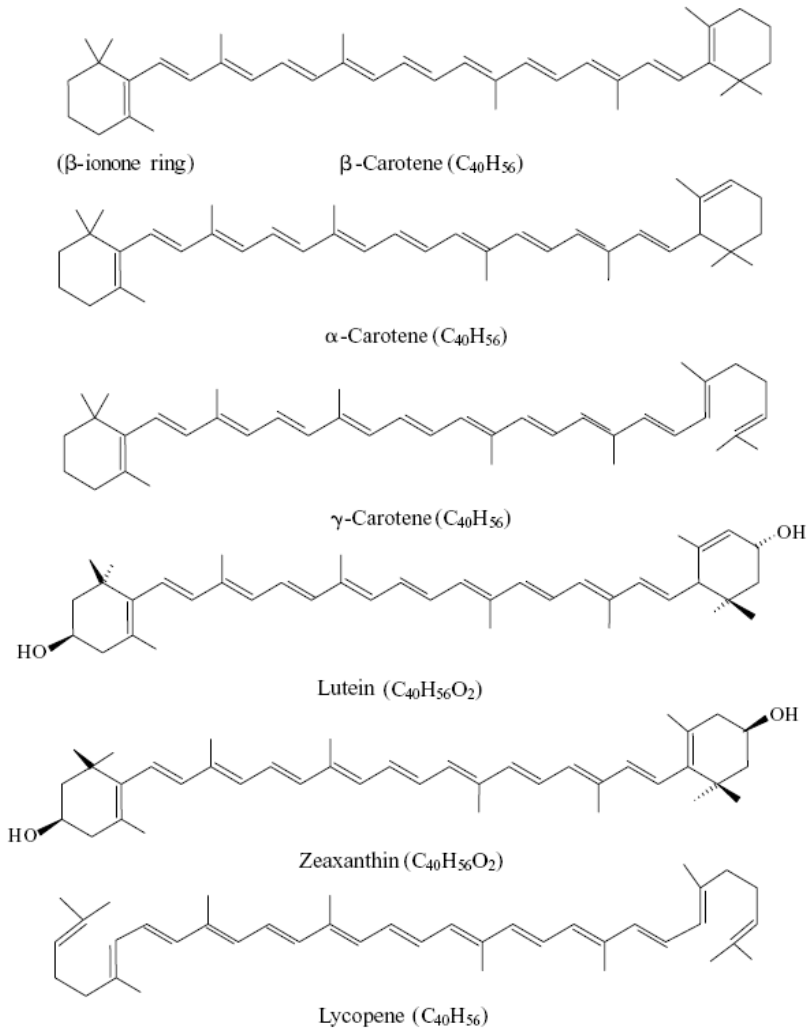


Figure 9. Structure of carotenoids

ที่มา: Lee และ Schwartz (2005)

แคโรทีนอยด์มีสมบัติการต้านออกซิเดชันเนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลเป็นพันธะคู่แบบคอนจูเกต (conjugated double bond) ซึ่งช่วยในการกระจายอิเล็คตรอน ทำให้มีความเสถียร โดยเฉพาะเบต้าแคโรทีนและไลโคพีน (lycopene) (Figure 9) มีประสิทธิภาพในการหยุดยั้งซิงเกลทออกซิเจนสูง (สมการที่ 16) โดยไม่ทำให้เกิดการสลายตัว และมีความว่องไวในการดักจับอนุมูลอิสระ เช่น อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล ไฮดรอกซิล และซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน (Figure 10) คุณสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระของแคโรทีนอยด์ขึ้นอยู่กับความสามารถในการให้อิเล็คตรอนหรืออะตอมไฮโดรเจน Miller และคณะ (1996) พบว่าแคโรทีนอยด์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชัน (functional groups) ซึ่งสามารถเพิ่มความเป็นขั้ว (polarities) เช่น หมู่คาร์บอนิล (carbonyl) และ

ไฮดรอกซิล (hydroxyl) ในวงแหวนที่อยู่ส่วนปลาย (terminal ring) และจำนวนของพันธะคู่แบบคอนจูเกตในโครงสร้างของแคโรทีนอยด์ โดยพบว่าแคโรทีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่าแซนโธฟิลล์ เนื่องจากความเป็นขั้วที่เพิ่มขึ้นของหมู่ฟังค์ชันในวงแหวนส่วนปลาย ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS สามารถเรียงลำดับได้ ดังนี้ ไลโคปีน > เบต้าคริปโทแซนทีน ≈ เบต้าแคโรทีน > ลูทีน ≈ ซีแซนธิน (zeaxanthin) > อัลฟาแคโรทีน > อีชินีโนน (echinenone) > แคนธาแซนธิน (canthaxanthin) = แอสทาแซนธิน (astaxanthin)

$$^{1}O_2 + {}^{1}\beta\text{-carotene} \rightleftharpoons {}^{3}O_2 + {}^{3}\beta\text{-carotene} \quad \ldots (16)$$

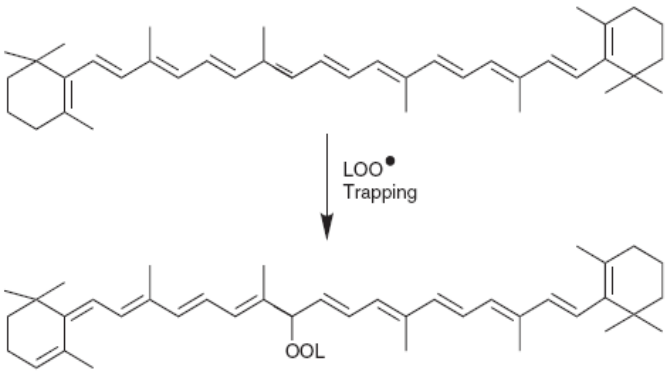


Figure 10. Radical trapping mechanism of carotenoids
ที่มา: Hall (2001)

กลไกการทำปฏิกิริยาระหว่างแคโรทีนอยด์กับอนุมูลอิสระสามารถสรุปได้เป็น 3 กลไก คือการถ่ายโอนอิเล็คตรอน (electron transfer) (สมการที่ 17) การให้ไฮโดรเจนอะตอม (hydrogen abstraction) (สมการที่ 18) และการจับอนุมูลอิสระเข้าไว้ในโมเลกุล (addition of radical species) (สมการที่ 19) (Young *et al*., 2004)

$$CAR + LOO^{\bullet} \longrightarrow CAR^{\bullet+} + LOO^{-} \quad \text{electron transfer} \quad \ldots (17)$$

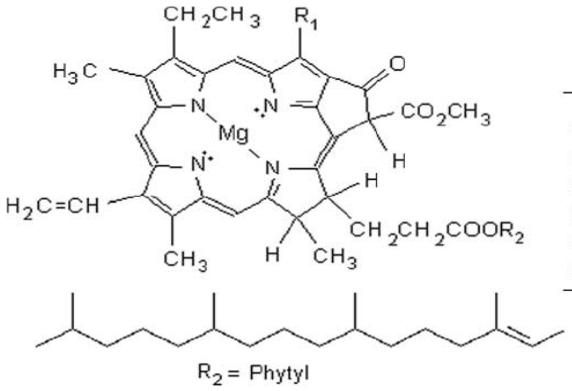
$$CAR + LOO^{\bullet} \longrightarrow CAR^{\bullet} + LOOH \quad \text{hydrogen abstraction} \quad \ldots (18)$$

$$CAR + LOO^{\bullet} \longrightarrow LOO\text{-}CAR^{\bullet} \quad \text{addition} \quad \ldots (19)$$

4.3.2.4 คลอโรฟิลล์

คลอโรฟิลล์ เป็นรงควัตถุที่สำคัญในพืช อยู่ในคลอโรพลาสต์ พบในทุกส่วนของพืชที่มีสีเขียว เช่น ใบ ก้าน และในผลไม้ดิบ คลอโรฟิลล์จำเป็นต่อการสังเคราะห์แสงของพืช โดยจะดูดพลังงานจากแสงเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ คลอโรฟิลล์ที่พบในพืชชั้นสูงมี 2 ชนิดคือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี โมเลกุลของ

คลอโรฟิลล์ประกอบด้วย ส่วนหัวของวงแหวนพอร์ไฟริน (porphyrin ring) ซึ่งเป็นโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยวงแหวนไพโรล (pyrrole) ยึดติดกันโดยเมเธนคาร์บอน (methane carbon, -CH=) เกิดเป็นโมเลกุลใหญ่ที่แบนราบ ในคลอโรฟิลล์มีแมกนีเซียม (Mg) อยู่ตรงกลาง โดยแมกนีเซียมอะตอมยึดติดกับไนโตรเจนอะตอม 2 อะตอม ด้วยพันธะโคเวาเลนซ์ ส่วนไนโตรเจนอีก 2 อะตอม ต่างแบ่งอิเล็คตรอน 2 อิเล็คตรอน เพื่อใช้ร่วมกับแมกนีเซียมเกิดเป็นพันธะโคออร์ดิเนตโควาเลนต์ (coordinate covalent) และส่วนหางซึ่งเป็นไฮโดรคาร์บอนสายยาว เรียกว่า ไฟทอล (phytol) คลอโรฟิลล์บีแตกต่างจากคลอโรฟิลล์เอที่หมู่แอลดีไฮด์ (aldehyde group, -CHO) ซึ่งจะแทนที่หมู่เมธิล (methyl group, CH3) ที่ตำแหน่งที่ 3 (Ferruzzi and Blakeslee, 2007) (Figure 11) นอกจากนี้ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บีมีสีที่แตกต่างกัน คลอโรฟิลล์เอมีสีเขียวแกมน้ำเงิน ส่วนคลอโรฟิลล์บีมีสีเขียวแกมเหลือง ในเนื้อเยื่อของพืชมีคลอโรฟิลล์เอมากกว่าคลอโรฟิลล์บีประมาณ 3 เท่า (Hojnik *et al*., 2007) คลอโรฟิลล์เป็นพวกที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) จึงไม่ละลายในน้ำ



Derivative	Metal	R_1	R_2
Chlorophyll a	Mg	CH_3	Phytyl
Chlorophyll b	Mg	CHO	Phytyl
Pheophytin a		CH_3	Phytyl
Pheophytin b		CHO	Phytyl
Pheophorbide a		CH_3	H
Pheophorbide b		CHO	H

Figure 11. Structure of chlorophyll derivatives

ที่มา: Marquez และคณะ (2005)

โดยทั่วไปคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์ เป็นโปรออกซิแดนซ์ เนื่องจากสามารถเร่งการเกิดโฟโตออกซิเดชันของไขมันและน้ำมัน อย่างไรก็ตาม Endo และคณะ (1985) พบว่าคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้

Hoshima และคณะ (1998) ศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของคลอโรฟิลล์และอนุพันธ์ 6 ชนิด ที่ได้จากใบผักโขม ได้แก่ คลอโรฟิลล์เอและบี คลอโรฟิลไลด์ (chlorophyllide) เอและบี ฟีโอฟอร์ไบด์ (pheophorbide) เอและบี และไพโรฟีโอฟอร์ไบด์ (phyropheophorbide) เอและบี ด้วยวิธีการกำจัดอนุมูลอิสระซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน พบว่าคลอโรฟิลล์บีและอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์บีมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออนได้ดีกว่าคลอโรฟิลล์เอและอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เอและ

คลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระดีกว่าอนุพันธ์ที่อยู่ในรูปของ metal free derivatives และพบว่าวงแหวนพอร์ไฟรินมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

Ferruzzi และคณะ (2002) พบว่า คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของคลอโรฟิลล์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ โดยอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์เอสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์บี นอกจากนี้ metal free derivatives เช่น คลอริน (chorins) ฟีโอไฟติน (pheophytins) และไพโรฟีโอไฟติน (pyriopheophytins) มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้น้อยกว่า metalloderivatives เช่น Mg-chlorophylls, Zn-pheophytins, Zn-pyropheophytins, Cu-pheophytin และ Cu-chlorophyllins

4.3.2.5 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยสารที่มีโครงสร้างและหน้าที่แตกต่างกันไป จัดเป็นสารเมทาบอลิซึมทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พืชสร้างขึ้นจากกระบวนการชิคิมิคแอซิดพาธเวย์ (Shikimic acid pathway) (Figure 12) และฟีนิลโพรพานอยด์เมทาบอลิซึม (Phenylpropanoid metabolism) (Figure 13) เพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชกระจายตัวอยู่ในเนื้อเยื่อ (tissue) เซลล์ (cellular) และซับเซลลูลาร์ (subcellular) ในปริมาณที่แตกต่างกัน โดยฟีนอลิกที่ไม่ละลาย (insoluble phenolics) พบในผนังเซลล์ของพืช (cell wall) ในขณะที่ฟีนอลิกที่ละลาย (soluble phenolics) พบในแวคิวโอล (vacuoles) ส่วนในเนื้อเยื่อ ฟีนอลิกที่ละลายจะอยู่ในเนื้อเยื่อชั้นนอก (epidermal และ subepidermal layers) มากกว่าเนื้อเยื่อชั้นใน (mesocarp และ pulp) เช่น ในผลไม้ ฟลาโวนอลไกลโคไซด์ (flavonol glycosides) พบในเนื้อเยื่อชั้นนอกหรือในเอพิคาร์พ (epicarp) (Bengoechea *et al*., 1997; Naczk and Shahidi, 2006)

โดยทั่วไปโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกอาจมีหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่หรือมากกว่า พบในพืช ผัก ผลไม้และเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา กาแฟ เบียร์ ไวน์และน้ำผลไม้ (Table 3) โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช และพบว่าพืชชนิดเดียวกันแต่มีสถานที่ผลิตแตกต่างกัน ก็มีสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่แตกต่างกันด้วย เนื่องจากการสร้างสารประกอบฟีนอลิกของพืชมีปัจจัยทางด้านพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อมมาเกี่ยวข้อง นอกจากนี้พบว่า วิธีการเพาะปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูป หรือแม้แต่วิธีการเก็บรักษา ก็ล้วนมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งสิ้น (วิวัฒน์ หวังเจริญ, 2545)

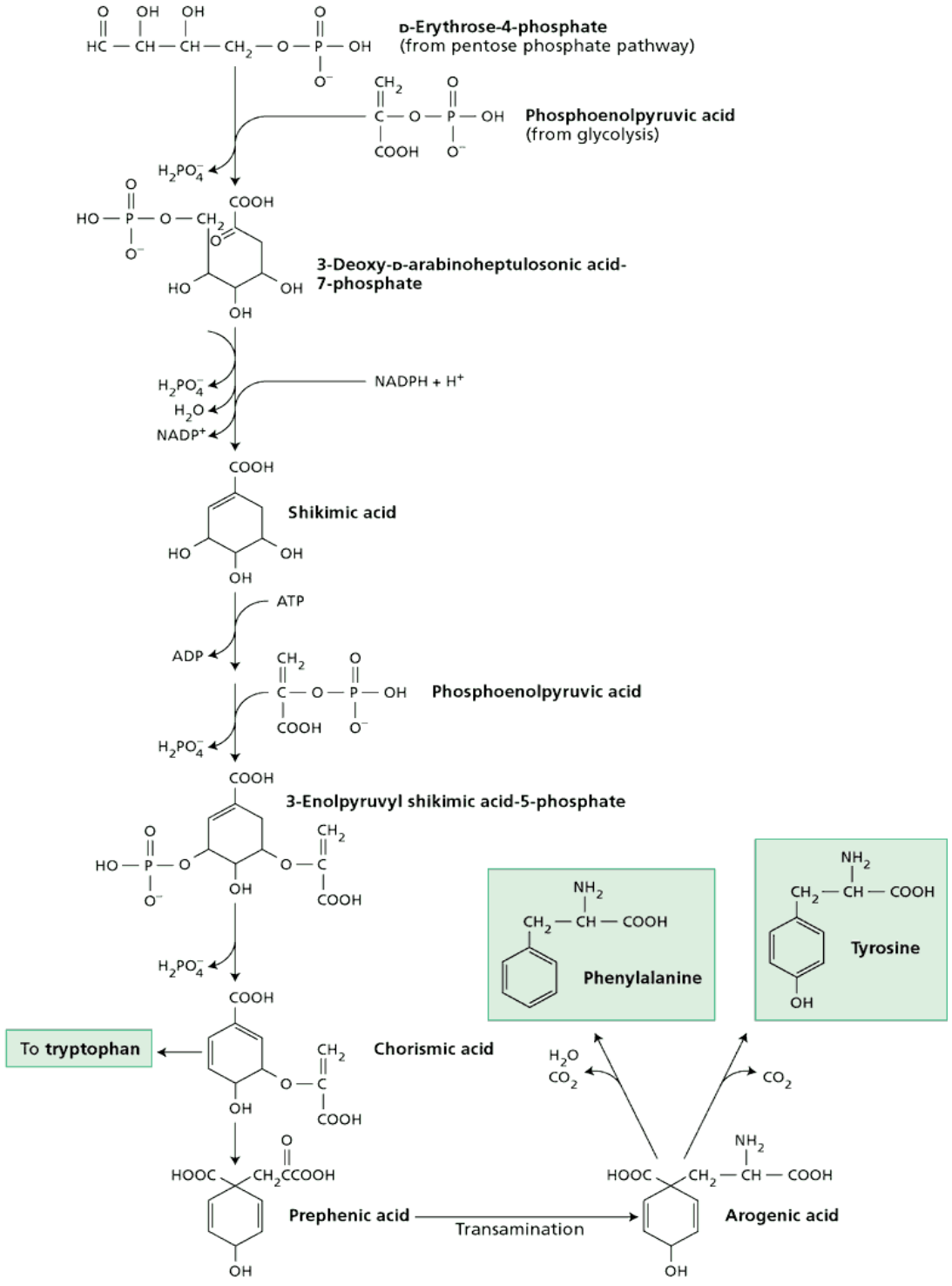


Figure 12. The shikimic acid pathway

ที่มา: Engelberth (2006)

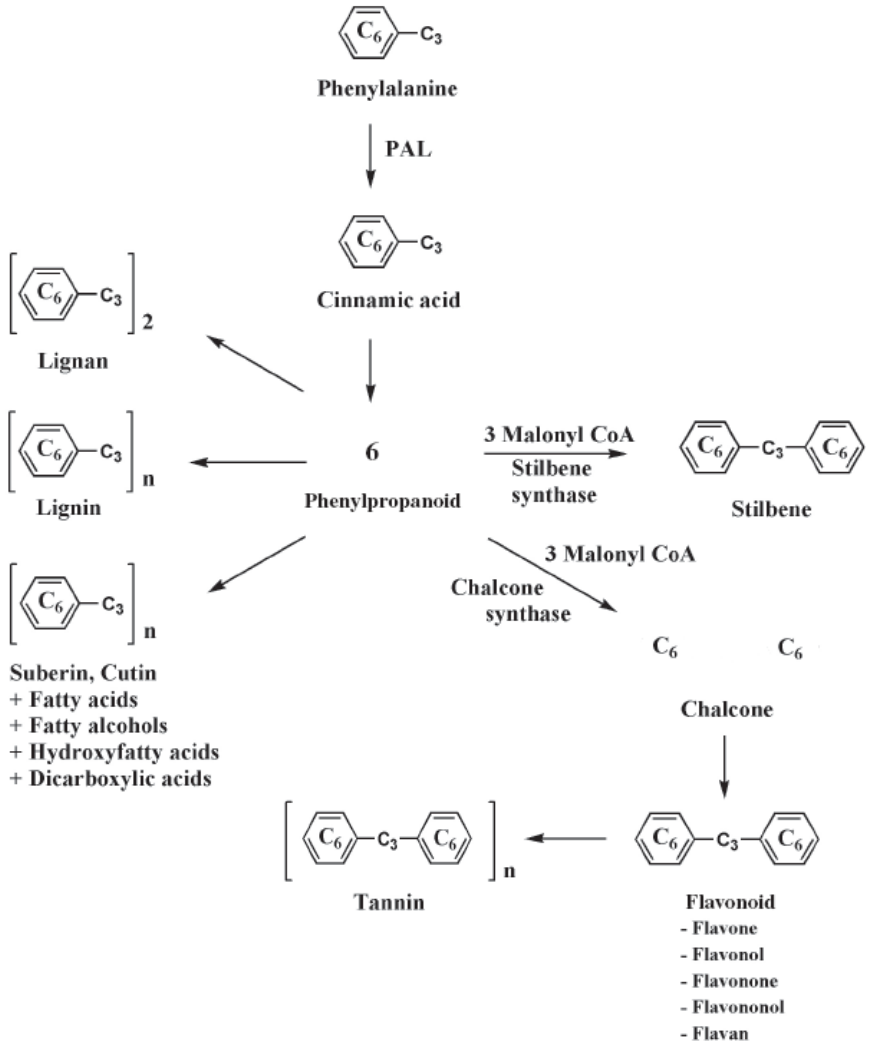


Figure 13. Production of phenylopropanoid, flavonoid, tannin, and other phenolic from phenylalanine, PAL denotes phenylalanine ammonia lyase

ที่มา: Shahidi และ Naczk (2005)

Table 3. Some dietary sources of flavonoids and phenolic acid

Flavonoids and phenolic acid	Source
Catechins	Tea, red wine
Flavonone	Citrus fruits
Flavonols (e.g. Quercetin)	Onions, olives, tea, wine, apples
Anthocyanidins	Cherries, strawberries, grapes, coloured fruits
Caffeic acid	Grapes, wine, olives, coffee, apples, tomatoes, plums, cherries

ที่มา: Croft (1999)

กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก

ความว่องไวในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของโมเลกุล โดยเฉพาะตำแหน่งของหมู่ไฮดรอกซีของฟีนอลและโครงสร้างทางเคมีอื่นๆ สารต้านออกซิเดชันประเภทฟีโนลิก (PhOH) ทำหน้าที่ในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่น โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอนุมูลอิสระแอลคิล (สมการที่ 20) เนื่องจากอนุมูลอิสระฟีนอกซิล (phenoxyl radical, $PhO^{\bullet}$) ที่เกิดมีความเสถียรจึงไม่เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระชนิดอื่นต่อไปอีก นอกจากนี้ยังเป็นสารรีดิวซ์กำจัดออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ (Rice-Evans and Miller, 1996) และจับโลหะ เช่น เหล็กและทองแดง (Figure 14) ทำให้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเฟนทอน (Fenton) ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่เฟอร์รัสไอออนเร่งให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ ดังสมการที่ 21

$$ROO^{\bullet} + PhOH \longrightarrow ROOH + PhO^{\bullet} \qquad \ldots (20)$$

$$Fe^{2+} + H_2O_2 \longrightarrow Fe^{3+} + {}^{\bullet}OH + {}^{-}OH \qquad \ldots (21)$$

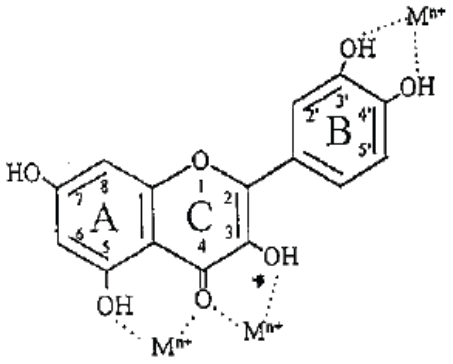


Figure 14. Quercetin binding site to metal chelating
ที่มา: Packer และคณะ (1999)

ศักยภาพของสารประกอบฟีนอลิกในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ขึ้นอยู่กับค่ารีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potential) ของหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลและโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิก ประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ (Figure 15) มีมากขึ้น ถ้าในโครงสร้างโมเลกุลมีตำแหน่ง ดังต่อไปนี้ (Rice-Evans and Miller, 1996; Benavente-Garcia *et al*., 1997)

1. โครงสร้างที่วงแหวนบี มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3′ และ 4′ (3′, 4′-hydroxyl group) (Figure 16, a) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเควอร์ซีทิน (quercetin) และเคียมเฟอรอล

(kaempferol) พบว่าเคียมเฟอรอล มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเควอร์ซีทิน เนื่องจากในวงแหวนบีของเคียมเฟอรอล ไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่ง 3′

2. โครงสร้างที่วงแหวนซี มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2 และ 3 (2,3-double bond) และที่ตำแหน่ง 4 เชื่อมต่อกับหมู่คาร์บอนิล (4-oxo group) (Figure 16, b) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเคอร์ซีทินและทาซิโฟลิน (taxifolin) พบว่าทาซิโฟลินมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเควอร์ซิทิน เนื่องจากในวงแหวนซีของทาซิโฟลินไม่มีพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 2 และ 3

3. โครงสร้างที่วงแหวนซี มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3 (3-hydroxyl group) และที่วงแหวนเอมีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 5 (Figure 16, c) เมื่อเปรียบเทียบโครงสร้างระหว่างเควอร์ซิทินและลูทีโอลิน (luteolin) พบว่าลูทีโอลินมีสมบัติในการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าเควอร์ซิทิน เนื่องจากในวงแหวนซีของลูทีโอลินไม่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3

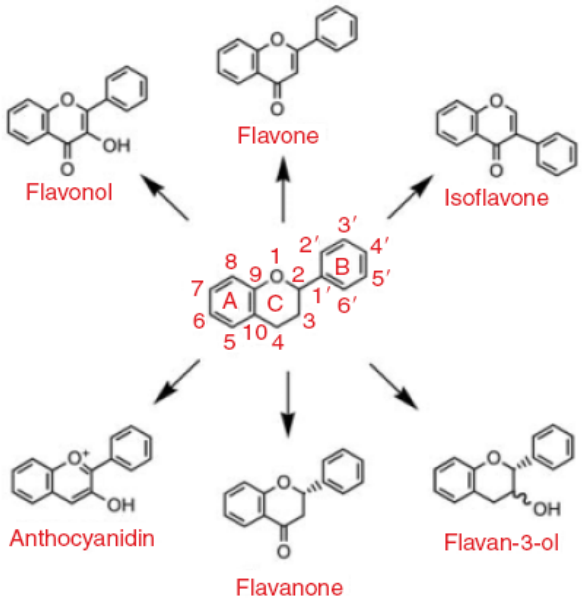


Figure 15. Generic structures of the major flavonoids

ที่มา: Crozier และคณะ (2006)

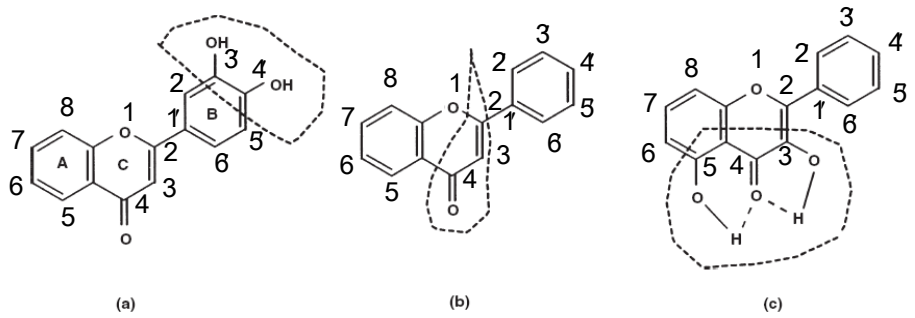


Figure 16. Antioxidant activity structure relationship of flavonoids, (a) a catechol moiety of the B-ring, (b) the 2,3-double bond in conjugation with a 4-oxofunction of a carbonyl group in the C-ring and (c) presence of hydroxyl groups at the 3 and 5 positions

ที่มา: ดัดแปลงจาก Shi และคณะ (2001)

อย่างไรก็ตามความสามารถหรือประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก ยังขึ้นอยู่กับกลไกในการจับอนุมูลอิสระ การเชื่อมต่อกับกลูโคส (glycosides) หรือไม่มีกลูโคส (aglycons) และตำแหน่งของกลูโคสที่จับอยู่ในโครงสร้างของฟลาโวนอยด์ ดังแสดงใน Table 4

Table 4. Effect of glycosylation or methylation of flavonols on their antioxidant activity

Flavonol (aglycon)	Antioxidant activity* (%)	Glucoside or methoxyl derivative	Antioxidant activity (%)
Kaempferol	65.3	Kaempferide	60.0
Kaempferol	65.3	Kaempferol 3, 7 -*O*-dirhamnoside	-17.5
Quercetin	63.6	Quercetin 3-*O*-glucoside-7-*O*-rhamnoside	-6.2
Quercetin	63.6	Quercetin 3-*O*-rhamnoglucoside (rutin)	-10.2
Quercetin	63.6	3,5,7,3’,4’-pentamethoxyflavone	1.1
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3’-*O*-glucoside	26.2
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3,3’-*O*-diglucoside	1.1
Laricytrin	28.5	Laricytrin 3,7,3’-*O*-triglucoside	-6.2
Laricytrin	28.5	3,5,7,3’,4’,5,-hexamethoxyflavone	2.3
Myricetin	18.4	3,5,7,3’,4’,5,-hexamethoxyflavone	2.3

*****Antioxidant activity was calculated as percent inhibition of oxidation versus control sample without flavonoid added by an aqueous emulsion system of β-carotene and linoleic acid model

ที่มา: Burda และ Oleszek (2001)

นอกจากนี้พบว่าหมู่ไฮดรอกซิลในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกมีความสัมพันธ์กับกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน กล่าวคือ สารประกอบฟีนอลิกที่มีจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลมาก จะแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูง (Fukumoto and Mazza, 2000; Pulido *et al*., 2000) ถ้าจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลลดลงไปหนึ่งหมู่ ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงเล็กน้อย แต่ถ้าจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลลดลงสองหมู่ กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

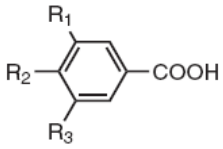
การแบ่งกลุ่มของสารประกอบโพลีฟีนอลิก

โครงสร้างของสารประกอบโพลีฟีนอลิกประกอบด้วยวงแหวนอะโรเมติคและหมู่ไฮดรอกซิล สามารถแบ่งออกเป็นกลุ่ม โดยใช้จำนวนคาร์บอนเป็นเกณฑ์ ได้ตาม Table 5 และมีโครงสร้างดังแสดงใน Figure 17

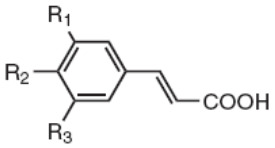
Table 5. The classes of phenolic compounds in plants

Basic skeleton	Class	Examples
C_6	Simple phenols	Phenol, guaiacol
	Benzoquinones	2,6-Dimethoxybenzoquinone
C_6-C_1	Hydroxybenzoic acids	Gallic, *p*-hydroxybenzoic, salicylic
C_6-C_2	Acetophenone	3-Acetyl-6-ethoxybenzaldehyde
	Phenylacetic acid	*p*-Hydroxyphenylacetic
C_6-C_3	Hydroxycinnamic acids	Caffeic, ferulic, *p*-coumaric
	Phenypropenes	Myristicin
	Coumarins	Aesculetin
	Isocoumarin	Bergenon
	Chromones	Eugenin
C_6-C_4	Naphtoquinones	Juglone
C_6-C_1-C_6	Xanthone	Mangiferin
C_6-C_2-C_6	Stilbene	Resveratrol
	Anthraquinoids	Emodin
C_6-C_3-C_6	Flavonoids	Quercetin, catechin
	Isoflavonoids	Genistein
$(C_6C_3)_2$	Lignans	Pinoresinol
	Neoligans	Eusiderin
$(C_6$-C_3-$C_6)_2$	Biflavonoids	Amentoflavone
$(C_6$-$C_3)_n$	Lignins	
$(C_6)_n$	Catechol melanine	
$(C_6$-C_3-$C_6)_n$	Condensed tannis	

ที่มา: Waterman และ Mole (1994)



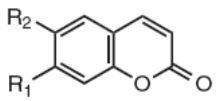
Benzoic acid derivatives



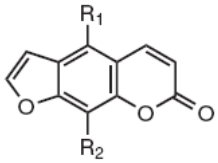
Cinnamic acid derivatives

Acid	R_1	R_2	R_3
p-Hydroxybenzoic	H	OH	H
Protocatechuic	OH	OH	H
Vanillic	OCH_3	OH	H
Syringic	OCH_3	OH	OCH_3
Gallic	OH	OH	OH

Acid	R_1	R_2	R_3
p-Coumaric	H	OH	H
Caffeic	OH	OH	H
Ferulic	OCH_3	OH	H
Sinapic	OCH_3	OH	OCH_3



Simple coumarins



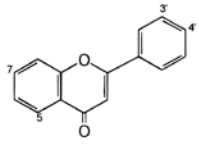
Furanocoumarins

Acid	R_1	R_2
Coumarin	H	H
Umbelliferone	OH	H
Aesculetin	OH	OH
Scopoletin	OH	OCH_3

Acid	R_1	R_2
Psoralen	H	H
Xanthaxin	H	OCH_3
Bergapten	OCH_3	H
Bergaptol	OH	H

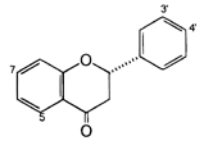
Figure 17. Structures of phenolic compounds

ที่มา: Shahidi และ Naczk (2004)



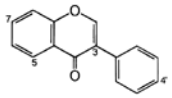
Flavones

	5	7	3′	4′
luteolin	OH	OH	OH	OH
Apigenin	OH	OH	H	OH
chrysin	OH	OH	H	H



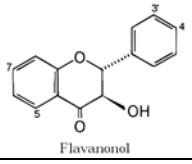
Flavanones

	5	7	3′	4′
hesperetin	OH	OH	OH	OH
naringenin	OH	OH	H	OH



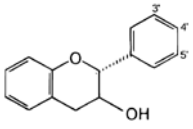
Isoflavones

	5	7	4′
genistein	OH	OH	OH
genistin	OH	O-glc	OH
daidzein	H	OH	OH
daidzin	H	O-glc	OH
biochanin A	OH	OH	OCH_3
formononetin	H	OH	OCH_3



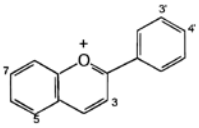
Flavanonol

	5	7	3′	4′
toxifolin	OH	OH	OH	OH



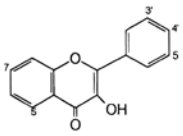
Flavan-3-ols

	3	5	7	3′	4′	5′
(+)-catechin	βOH	OH	OH	OH	OH	H
(-)-epicatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	H
(-)-epigallocatechin	αOH	OH	OH	OH	OH	OH



Flavylium Salts

	3	5	7	3′	4′
cyanidin	OH	OH	OH	OH	OH
cyanin	O-glc	OH	OH	OH	OH
pelargonidin	OH	OH	OH	H	OH



Flavonols

	5	7	3′	4′	5′
quercetin	OH	OH	OH	OH	H
kaempferol	OH	OH	H	OH	H
galangin	OH	OH	H	H	H
fisetin	H	OH	OH	OH	H
myricetin	OH	OH	OH	OH	OH

Figure 17. Structures of phenolic compounds (continued)

ที่มา: Pietta (2000)

สมบัติการต้านออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิต (*In Vivo*) และที่ได้รับจากการบริโภคสามารถสรุปได้ดัง Table 6

Table 6. Defense systems *In Vivo* against oxidative damage

1. Preventive antioxidant: suppress the formation of free radicals	
1.1 Non-radical decomposition of hydroperoxides and hydrogen peroxide	
Catalase	Docomposition of hydrogen peroxide $2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O + O_2$
Glutathione peroxidase (cellular)	Decompesition of hydrogen peroxide and free fatty acid hydroperoxide $H_2O_2 + 2GSH \longrightarrow 2H_2O + GSSG$
Glutathione peroxidase (plasma)	$LOOH+2GSH \longrightarrow LOH + H_2O + GSSG$
Phospholipid hydroperoxide Glutathione peroxidase	Decomposition of hydrogen peroxide and phospholipid hydroperoxide $PLOOH + 2GSH \longrightarrow PLOH + H_2O+ GSSG$
Peroxidase	Decomposition of phospholipid hydroperoxide Decomposition of hydrogen peroxide and lipid hydroperoxide $LOOH + AH_2 \longrightarrow LOH + H_2O + A$ $H_2O_2 + AH_2 \longrightarrow 2H_2O + A$
Glutathione S-transferase	Decomposition of lipid hydroperoxide
1.2 Sequestration of metal by chelation	
Transferrin, lactoferrin	Sequestration of iron
Haptoglobin	Sequestration of hemoglobin
Heamopexin	Sequestration of heme
Ceruloplasmin, albumin	Sequestration of copper
1.3 Quenching of active oxygen species	
Superoxide dismutase (SOD)	Disproportionation of superoxide $2O_2^{\bullet -} + 2H^+ \longrightarrow H_2O_2 + O_2$
Carotenoids, vitamin E	Quenching singlet oxygen
2. Radical-scavenging antioxidants: scavenge radicals to inhibit chain initiation and break chain propagation	
Hydrophilic: Vitamin C, uric acid bilirubin, albumin	
Lipophilic: Vitamin E, ubiquinol, carotenoids, flavonoids	

ที่มา: Noguchi และ Niki (1999)

4.4 ประเภทของสารต้านออกซิเดชันในอาหาร

สารต้านออกซิเดชันในอาหารสามารถแบ่งได้เป็น 4 ประเภท ตามหน้าที่ของการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยแบ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (primary หรือ chain-breaking antioxidant) สารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ (synergist) สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย (miscellaneous antioxidants) (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

4.4.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ

สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ยับยั้งออกซิเดชันได้โดยให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็คตรอนแก่อนุมูลอิสระ ทำให้อนุมูลอิสระกลายเป็นสารที่มีความเสถียร สารประกอบฟีโนลิกหลายชนิดที่เป็นสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ เช่น โทโคฟีรอล ฟลาโวนอยด์ ยูกีนอล (eugenol) และกรดโรสแมรินิค (rosemarinic acid) สารต้านออกซิเดชันเหล่านี้มีประสิทธิภาพเมื่อมีความเข้มข้นน้อยๆ แต่เมื่อความเข้มข้นสูงๆอาจเป็นโปรออกซิเดนซ์ (Rajalakshmi and Narasimhan, 1996)

4.4.2 สารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์

เป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทำงานร่วมกัน คือจับออกซิเจน จับโลหะ โดยสารต้านออกซิเดชันที่จับออกซิเจน เช่น กรดแอสคอร์บิค แอสคอร์บิลพาลมิเทต (ascorbyl palmitate) ซัลไฟต์ (sulfite) และอีรีโธรเบท (erythorbates) ส่วนสารจับโลหะ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ กรดซิตริก และฟอสเฟต ซึ่งสารดังกล่าวไม่ได้เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยตรง แต่เมื่อทำงานร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ทำให้ประสิทธิภาพของการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น

4.4.3 สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ

สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ เป็นสารต้านออกซิเดชันที่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเพอร์ออกไซด์ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารที่มีความเสถียร ซึ่งอาจเรียกว่า ไฮโดรเพอร์ออกไซด์ดีคอมโพสเซอร์ (hydroperoxide decomposers)

4.4.4 สารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย

เป็นสารต้านออกซิเดชัน ที่เป็นได้ทั้งสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิหรือสารต้านออกซิเดชันแบบเสริมฤทธิ์ สารประกอบที่เป็นสารต้านออกซิเดชันแบบหลากหลาย ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ และอนุพันธ์ และกรดอะมิโน

4.5 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน (Yanishlieva-Maslarova, 2001)

สารต้านออกซิเดชันมีกลไกการทำงานแบ่งได้เป็น 6 แบบใหญ่ๆ คือ

4.5.1 ดักจับอนุมูลอิสระ/ ให้ไฮโดรเจน (radical scavenger/ hydrogen donor)

เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล เกิดเป็นไฮโดรเพอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นรูปที่เสถียร ไม่เกิดการเหนี่ยวนำ

ให้เกิดปฏิกิริยาอีก ในขณะที่ตัวของสารยับยั้งจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระแทน และสามารถจับกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลตัวอื่นให้อยู่ในรูปที่เสถียรได้อีก ดังสมการที่ 22-24

$$LO^{\bullet} + AH \longrightarrow A^{\bullet} + LOH \quad \ldots (22)$$

$$LOO^{\bullet} + AH \longrightarrow A^{\bullet} + LOOH \quad \ldots (23)$$

$$LOO^{\bullet} + A^{\bullet} \longrightarrow LOOA \quad \ldots (24)$$

สารประกอบที่สามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระได้นั้น จะต้องมีรีดักชั่นโพเทนเทียล (reduction potential) ต่ำกว่าอนุมูลอิสระ (Buettner, 1993) โดยหมู่ไฮดรอกซิลของสารประกอบฟีนอลิก มีประสิทธิภาพในการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระ และเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระฟีโนลิกที่เสถียร

4.5.2 ยับยั้งการทำงานของซิงเกลทออกซิเจน (singlet oxygen quencher)

สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ สามารถเปลี่ยนออกซิเจนที่อยู่ในรูปของซิงเกลทออกซิเจนให้กลายเป็นทริปเพลทออกซิเจน (triplet oxygen, $^3O_2$) และปล่อยพลังงานที่ได้รับออกไปในรูปของความร้อน ดังสมการที่ 25

$$^1O_2 + Car \longrightarrow {}^3O_2 + {}^3Car^* \downarrow$$

$$Car + \text{thermal energy} \quad \ldots (25)$$

4.5.3 จับโลหะ (metal chelating agents)

เป็นตัวยับยั้งโปรออกซิแดนท์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นอนุมูลโลหะชนิดต่างๆ ดังสมการที่ 26

$$M^n + AH \longrightarrow M^nH \quad \ldots (26)$$

ตัวอย่างสารยับยั้งออกซิเดชันในกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดแอสคอร์บิค กรดซิตริก กรดทาร์ทาริค EDTA (ethylenediaminetetraacetic acid) และฟลาโวนอยด์

4.5.4 หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking)

สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิตามินอี ซึ่งสามารถรับอิเล็คตรอนจากอนุมูลอิสระ ทำให้หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ

4.5.5 เสริมฤทธิ์ (synergism)

สารชนิดนี้จะช่วยสนับสนุนให้สารต้านออกซิเดชันทำงานได้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่น การทำงานร่วมกันระหว่างอัลฟาโทโคฟีรอลกับกรดแอสคอร์บิค กรดแอสคอร์บิคไม่สามารถทำงานในระบบที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ได้เหมือนกับอัลฟาโทโคฟีรอล แต่จะให้ไฮโดรเจน

อะตอมแก่อนุมูลที่เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างอัลฟาโทโคฟีรอลกับอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิล เปลี่ยนรูปกลับเป็นอัลฟาโทโคฟีรอล ที่สามารถทำงานได้ (Frankel, 1998)

4.5.6 ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เช่น ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก และแกลเลท (gallates) สามารถยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส โดยสามารถเข้าจับกับไอออนของเหล็กซึ่งเป็นโคแฟคเตอร์ (cofactor) ของเอนไซม์ ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าว (Puerta, 1999)

5. เครื่องต้มข่า

เครื่องต้มข่า ประกอบด้วยเครื่องเทศหลายชนิด เช่น ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด เป็นต้น มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับคุณสมบัติต่างๆ ของเครื่องเทศเหล่านี้อย่างกว้างขวาง ทั้งชาวไทยและชาวต่างชาติ โดยรายละเอียดของเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องต้มข่า ดังนี้

5.1 ข่า

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Alpinia galanga* (Linn.) Swartz,
Languas galanga (Linn.) Stuntz.

วงศ์ ZINGIBERACEAE

ชื่อสามัญ Gerater galangal

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ ข่าเป็นพืชล้มลุก อายุหลายปี ลำต้นลงหัวอยู่ใต้ดิน เรียกว่า “ เหง้า ” ลักษณะภายนอกของเหง้ามีข้อและปล้องเห็นได้ชัดเจน มักแตกแขนงเป็นง่าม มีสีน้ำตาลอมแสด กลิ่นฉุน ส่วนที่อยู่เหนือดินคือก้านและใบสูงประมาณ 1.0-2.0 เมตร ใบเป็นใบเดี่ยว รูปไข่ยาวหรือรูปรีขอบขนานคล้ายใบพาย ปลายใบแหลมสีเขียวเข้มเป็นมัน มีกาบใบหุ้มซ้อนกันดูคล้ายลำต้น ดอกออกเป็นช่อที่ยอด ก้านช่อดอกมีขน ดอกย่อยขนาดเล็กสีชมพูขาวอมม่วงแดง ผลกลมหรือค่อนข้างรี เปลือกสีแดงอมส้ม ผลแก่จัดมีสีดำขนาดประมาณ 1.0 เซนติเมตร ภายในเมล็ด 2-3 เมล็ด

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ เมื่อศึกษาเหง้าข่าตัดขวาง (cross section) ด้วยกล้องจุลทรรศน์พบว่า มีเม็ดแป้งกระจัดกระจายอยู่ในเซลล์พาเรนไคมา (parenchyma cell) มีเซลล์ที่มีน้ำมันชันบรรจุอยู่ (นิจศิริ เรืองรังษี, 2534) เหง้าข่าประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหยร้อยละ 0.04 ในน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น เมธิลซินนาเมท (methyl cinnamate) ร้อยละ 48 จินีออล (gineol) ร้อยละ 20-30 ยูจีนอล แคมเปอร์ (camphor) ไพนีน (pinenes) เป็นต้น Zaeoung และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก สอดคล้องกับการทดลองของ Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

ฟลาโวนอยด์และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหย โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 31.49, 8.25 และ 5.01 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัม (mg GAE/g) ปริมาณฟลาโวนอยด์เท่ากับ 13.78, 1.48 และ 0.20 มิลลิกรัมสมมูลย์ของคาเทชินต่อกรัม (mg CE/g) และมี IC_{50} (ความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถลดความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลงร้อยละ 50) เท่ากับ 10.66, 55.48 และ 455.43 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เทียบกับอัลฟาโทโคฟีรอล 1.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ BHA 0.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าสารสำคัญในสารสกัดข่าด้วยเอธานอลร้อยละ 50 คือ อะซิโทซีชาวิคอลอะซิเตท (1′-acetoxychavichol acetate) (10.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และคาเทชิน (1.74 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดด้วยน้ำมีสารสำคัญคือ ไมริซีทิน (myricetin) (14.60 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำมันหอมระเหยมีสารสำคัญคือ เมธิลยูจีนอล (4,130.37 ไมโครกรัมต่อกรัม) ชาวิคอล (chavicol) (2,390.45 ไมโครกรัมต่อกรัม) และยูจีนอล (728.30 ไมโครกรัมต่อกรัม)

Oonmetta-aree (2005) ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดข่าด้วยเอธานอลและเมธานอล โดยใช้เทคนิค TLC (Thin layer chromatography) พบว่าในสารสกัดทั้งสองประกอบด้วยอะซิโทซีชาวิคอลอะซีเตท เป็นองค์ประกอบหลัก และเมื่อวิเคราะห์โดยใช้เทคนิค GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry) พบว่าในสารสกัดของข่าด้วยเอธานอลประกอบด้วยอะซิโทซีชาวิคอลอะซีเตทร้อยละ 76.49 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พาราเคามาริลไดอะซิเตท (*p*-coumaryl diacetate) ร้อยละ 7.96 (ปริมาตรต่อปริมาตร) กรดปาล์มมิติค (palmitic acid) ร้อยละ 3.19 (ปริมาตรต่อปริมาตร) อะซิโทซียูจีนอลอะซีเตท (1'-acetoxyeugenol acetate) ร้อยละ 3.06 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เบต้าไบซาโบลีน (β-bisabolene) ร้อยละ 2.31 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และกรดโอเลอิค (9-octadecenoic acid) ร้อยละ 2.28 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และพบอะซิโทซีชาวิคอลอะซีเตท ร้อยละ 78.41 (ปริมาตรต่อปริมาตร) พาราเคามาริลไดอะซีเตท ร้อยละ 6.77 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และอะซีโทซียูจีนอลอะซิเตท ร้อยละ 2.40 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นองค์ประกอบในสารสกัดข่าด้วยเมธานอล ในขณะที่ Bendjeddou และคณะ (2003) รายงานว่าในสารสกัดข่าด้วยน้ำประกอบด้วยสารประกอบที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น โพลีแซคคาไรด์และโปรตีน

Jirovetz และคณะ (2003) วิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบจากน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากใบ ลำต้น เหง้าและรากของข่าจากอินเดียใต้ โดยใช้เทคนิค GC-FID (Gas chromatography-flame ionization detector) และ GC-MS พบว่าน้ำมันหอมระเหยในเหง้าข่าประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ ซินีโอล ร้อยละ 28.4 เฟนชิลอะซิเทต (fenchyl acetate) ร้อยละ

18.4 แคมเปอร์ ร้อยละ 7.7 เมทธิลซินนาเมท ((*E*)-methyl cinnamate) ร้อยละ 4.2 และกัวไอออล (guaiol) (ร้อยละ 3.3) ส่วน Jantan และคณะ (2004) พบว่าน้ำมันหอมระเหยในเหง้าข่าของมาเลเซีย ประกอบด้วยสารสำคัญ คือ ซินีโอล ร้อยละ 40.5 เบต้าไบซาโบลีน (β-bisabolene) ร้อยละ 8.4 ฟาร์นีซอล ((*Z*, *E*)-farnesol) ร้อยละ 3.8 เบต้าคาร์รีโอฟิลล์ลีน (β-caryophyllene) ร้อยละ 3.0 และเบต้าฟาร์นีซีน ((*E*)-β-farnesene) ร้อยละ 3.2

Natta และคณะ (2008) ศึกษาน้ำมันหอมระเหยของเหง้าข่าที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายคือปิโตรเลียมอีเธอร์และเอธานอล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่นด้วยไอน้ำมีสารสำคัญคือ เมธิลชาวิคอล (ร้อยละ 37.9) ส่วนสารสำคัญที่พบในสารสกัดด้วยตัวทำละลายคือเอททิลพารามีทอกซีซินนาเมท (ethyl-*p*-methoxycinnamate) (พบในสารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์ ร้อยละ 49.8 สารสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดด้วยเอธานอล ร้อยละ 68.2 และสารสกัดด้วยเอธานอล ร้อยละ 74.6)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.1.1 มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรีย (Arambewelaa *et al*., 1999; Oonmetta-aree, 2005; Vuddhakul *et al*., 2007) ฆ่าเชื้อรา (Prachayabreud *et al*., 1996; Ficker *et al*., 2003; Khattak *et al*., 2005) และยีสต์ (Oonmetta-aree, 2005)

5.1.2 มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Moffatt *et al*., 2000; Lee and Houghton, 2005; Zaeoung *et al*., 2005)

5.1.3 น้ำมันหอมระเหยจากเหง้าข่ามีฤทธิ์ขับลม

5.1.4 โพลีแซคคาไรด์จากข่า มีคุณสมบัติในการเพิ่มภูมิคุ้มกันทั้งระบบฟาโกไซติค (phagocytic) และลิมโพไซติค (lymphocytic) (Bendjeddou *et al*., 2003)

5.1.5 ยับยั้งการจับตัวกันของเกล็ดเลือดกระต่าย โดยมี IC_{50} เท่ากับ 73.9 ± 2.9 (Jantan *et al*., 2005)

5.1.6 ลดระดับน้ำตาลในเลือด (Akhtar *et al*., 2002)

5.1.7 ลดความดันโลหิต (Othman *et al*., 2006)

5.1.8 ยับยั้งการเกิดภูมิแพ้ (Matsuda *et al*., 2003a)

5.1.9 ยับยั้งการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร (Matsuda *et al*., 2003b)

5.1.10 ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Cheah and Hasim, 2000; Juntachote and Berghofer, 2005; Zaeoung *et al*., 2005; Juntachote *et al*., 2006a; Juntachote *et al*., 2007; Mayachiewa and Devahastin, 2008)

ส่วนที่ใช้ เหง้าอ่อนและแก่

ประโยชน์ทางด้านอาหาร เหง้าข่าทั้งอ่อนและแก่ใช้ปรุงอาหารคาว ข่าอ่อนและดอกข่านำมาใช้เป็นผักจิ้มน้ำพริก ไก่ต้มข่า ข่าแก่ซึ่งมีรสชาติเผ็ดร้อน ใช้เป็นเครื่องเทศปรุงรสและแต่งกลิ่น ใช้เป็นเครื่องปรุงในน้ำพริกแกงต่างๆ น้ำจิ้มต่างๆ (อบเชย วงศ์ทอง และขนิษฐา พูนผลกุล, 2545)

5.2 ตะไคร้

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Cymbopogon citratus* Stapf.

วงศ์ GRAMINEAE

ชื่อสามัญ Lemon grass, Lapine

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ ตะไคร้เป็นพืชล้มลุกจำพวกหญ้า ขึ้นอยู่รวมเป็นกอมีอายุหลายปี มีความสูงประมาณ 1.0 เมตร ลำต้นตั้งตรงมีข้อและปล้องสั้นค่อนข้างแข็ง ลำต้นส่วนที่อ่อนมีใบเรียงซ้อนสลับกันแน่นมาก กาบใบเป็นแผ่นยาวโอบซ้อนกันจนดูแข็ง ใบเป็นใบเดี่ยว รูปเรียวยาว ปลายใบเรียวแหลม ผิวใบสากมือทั้งสองด้าน ขอบใบมีขนขึ้นอยู่เล็กน้อย ก้านใบสีขาวนวลหรือม่วงอ่อนแผ่เป็นกาบ เมื่อขยี้ดมจะมีกลิ่นหอม ดอกออกเป็นช่อกระจาย ช่อดอกย่อยมีก้านออกเป็นคู่ๆ ในแต่ละคู่จะมีใบประดับรองรับแต่ดอกออกยาก

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ใบและลำต้นมีสารพวกอัลคาลอยด์ แทนนิน และคาร์ดิแอคไกลโคไซด์ (cardiac glycosides) ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้เกี่ยวข้องกับการต้านจุลินทรีย์ (Adegoke and Odesola, 1996) น้ำมันหอมระเหยประกอบด้วยซิทรอล (citral) ในปริมาณมากที่สุด คือประมาณร้อยละ 65-80 นอกจากนี้มียูจีนอล จีราไนออล (geraniol) ลินาลูล (linalool) เมนทอล (menthol) นีโรไลดอล (nerolidol) แคมเปอร์ ซิโทรเนลลอล (citronellol) เมธิลเฮพทานอล (methylheptenol) เฟอร์ฟูรอล (furfural) และเมธิลเฮพทีโนน (methylheptenone) เป็นต้น Schaneberg และ Khan (2002) พบนีราล (neral) เจอร์ราไนอาล (geranial) เจอร์ราไนออล (geraniol) ลิโมนีน (limonene) ซิโทรเนลลาล (citronellal) และเบต้าไมร์ซีน (β-myrcene) ในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ที่สกัดโดยใช้เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน อะซิโตนและเมธานอล ชลลดา กุลสถาพร และอมรทิพย์ สมสุข (2545) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะไคร้ โดยนำน้ำมันหอมระเหย สารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล และสารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำ มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี โดยมี EC_{50} (ความเข้มข้นที่กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ร้อยละ 50) เท่ากับ 49.76 และ 52.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยซึ่งองค์ประกอบหลักคือเจอร์ราไนอาลและนีราล (วิเคราะห์โดย GC-MS) มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำมาก (EC_{50}>100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอลได้ 1 ชนิดซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ คือ ลูทีโอลิน ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่า BHT (butylated

hydroxytoluene) 4 เท่า โดยลูทีโอลินมี EC_{50} เท่ากับ 5.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (18.93 ไมโครโมลาร์) ในขณะที่ BHT มี EC_{50} เท่ากับ 17.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (80.36 ไมโครโมลาร์) Cheel และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล แสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน และยับยั้งเอนไซม์แซนธีนออกซิเดส (xanthine oxidase, XO) และลิพิดเพอร์ออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยเมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 70 และสารสกัดด้วยน้ำโดยการแช่ (infusion) และการต้มเดือด (decoction) สารที่สามารถแยกได้จากสารสกัดด้วยเมธานอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน (isoorientin) ไอโซสคอพาริน (isoscoparin) สเวอร์เทียจาโพนิน (swertiajaponin) ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ (isoorientin 2-*O*-rhamnoside) และออเรียนทิน (orientin)) กรดคลอโรจีนิค และกรดคาฟเฟอิค ซึ่งสารดังกล่าวสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน และยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ โดยไอโซออเรียนทินและออเรียนทิน แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (IC_{50} = 9-10 ไมโครโมลาร์) และยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 70 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนกรดคาฟเฟอิคและคลอโรจีนิค แสดงคุณสมบัติในการกำจัดซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน (IC_{50} = 68.8 และ 54.2 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) และกรดคาฟเฟอิคสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 85 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Figueirinha และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำโดยการแช่ แสดงสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยสารสำคัญที่พบในสารสกัดคือ แทนนิน กรดฟีนอลิก (อนุพันธ์ของกรดคาฟเฟอิคและพาราเคามาริค) และฟลาโวนไกลโคไซด์ (อนุพันธ์ของอะพิจีนินและลูทีโอลิน)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.2.1 น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อราและแบคทีเรีย (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542; Adegoke and Odesola, 1996)

5.2.2 น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้สามารถลดไข้ในหนูทดลองได้ (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.2.3 สารสกัดจากตะไคร้และสารสำคัญในน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์ยับยั้งการกลายพันธุ์ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยสารเคมีในหลอดทดลอง (Vinitketkumnuen *et al*., 1994)

5.2.4 สารสกัดตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ทั้งต้น มีฤทธิ์ขับพยาธิไส้เดือน ทำให้ไส้เดือนเป็นอัมพาตภายใน 24 ชั่วโมง แต่พยาธิไม่ตาย (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.2.5 ใบและลำต้นแห้งมีฤทธิ์ลดการบีบตัวของลำไส้ส่วนปลายของกระต่าย และน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้มีฤทธิ์กระตุ้นลำไส้ให้บีบตัวจึงช่วยลดการแน่นจุดเสียด (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.2.6 สารสกัดจากตะไคร้ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Cheel *et al*., 2005; Figueirinha *et al*., 2007)

5.2.7 สารสกัดตะไคร้ด้วยน้ำมีฤทธิ์ลดระดับน้ำตาล (hypoglycemic) และไขมัน (hypolipidemic) ในเลือดหนู (wistar rats) (Adeneye and Agbaje, 2007)

ส่วนที่ใช้ ต้นและก้านใบ

ประโยชน์ทางด้านอาหาร ใช้เป็นเครื่องปรุงในน้ำพริกต่าง ๆ เช่น แกงเผ็ด แกงคั่ว หลนกะปิ ต้มยำ ยำและพล่าต่าง ๆ (อบเชย วงศ์ทอง และขนิษฐา พูนผลกุล, 2545)

5.3 พริกขี้หนู

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Capsicum frutescens* Linn. (*C. minimum* Roxb)

วงศ์ SOLANACEAE

ชื่อสามัญ Chili

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ พริกขี้หนูเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก สูงประมาณ 1.00-2.50 ฟุต ลำต้นตั้งตรง ใบเป็นใบเดี่ยว ออกตรงกันข้าม ใบกลมรี ปลายแหลม แผ่นใบเรียบเป็นมัน ดอกเป็นดอกเดี่ยวขนาดเล็กสีขาวหรือม่วง ผลมีหลายขนาด พริกขี้หนู มีผลขนาดเล็กยาวประมาณ 1.00-1.50 นิ้ว มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.25-0.70 เซนติเมตร ผลชี้ขึ้น ผลอ่อนมีสีเขียว เมื่อสุกมีสีแดงหรือแดงปนน้ำตาล ผิวลื่นเป็นมัน ภายในกลวง มีแกนกลาง บนแกนกลางมีเมล็ดสีเหลืองเกาะอยู่มากมาย แต่ละเมล็ดมีลักษณะแบนกลม

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ผลมีสารแคปไซซินอยด์ (capsaicinoids) ได้แก่ แคปไซซิน (capsaicin) ไดไฮโดรแคปไซซิน (dihydrocapsaicin) นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน (nordihydrocapsaicin) โฮโมแคปไซซิน (homocapsaicin) โฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน (homodihydrocapsaicin) ซึ่งเป็นสารที่มีรสเผ็ดร้อนอยู่ในบริเวณไส้ของผล และยังมีสารที่มีสีประเภทแคโรทีนอยด์ ประกอบด้วยแคปแซนธิน (capsanthin) แคปซารูบิน (capsarubin) แคโรทีน ลูทีโอลิน นอกจากนี้พบไขมัน โปรตีน วิตามินเอ วิตามินซีและน้ำมันหอมระเหยในปริมาณน้อย Zewdie และ Bosland (2001) พบว่าแคปไซซินอยด์ในพริกขี้หนูประกอบด้วยแคปไซซินในปริมาณมากที่สุด รองลงมาคือไดไฮโดรแคปไซซิน นอร์ไดไฮโดรแคปไซซิน ไอโซเมอร์ของไดไฮโดรแคปไซซินและโฮโมไดไฮโดรแคปไซซิน ตามลำดับ Li-E และคณะ (2008) พบว่าสารสกัดพริกเมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ประกอบด้วยสารสำคัญคือ แคปไซซิน กรดไฮดรอกซีเมทธิลเบนซีนอะซีติค (4-hydroxy-3-methyl-benzeneacetic acid) กรดลิโนเลอิค (9,12-octadecadienoic acid) กรดปาล์มมิติค (n-hexadecanoic acid) และกรดเพนตะเดคาโนอิค

(pentadecanoic acid) และกรดอินทรีย์ต่างๆ เช่น กรดปาล์มมิโตเลอิค (9-hexadecenoic acid) กรดไมริสติค (tetradecanoic acid) Orhan และคณะ (2002) พบว่าน้ำมันของเมล็ด (seed oil) พริกขี้หนู (*C. annuum* var. frutescens) เมื่อนำไปวิเคราะห์ด้วย GC-MS ประกอบด้วยกรดไขมัน ได้แก่ กรดปาล์มมิติค (palmitic) สเตียริค (stearic) ลิโนเลอิค (linoleic) และลิโนเลนิค (linolenic)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

5.4.1 แคปไซซินมีคุณสมบัติในการเพิ่มการหลั่งน้ำลายและกรดในกระเพาะอาหาร ป้องกันการเกิดแผลในกระเพาะอาหาร โดยเพิ่มการหลั่งสารเมือกมาเคลือบในกระเพาะอาหาร และช่วยป้องกันการเกิดมะเร็ง (Modly *et al*., 1986)

5.4.2 น้ำคั้นจากพริก ฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในหลอดทดลอง และในปัจจุบันใช้แคปไซซินมาประกอบเป็นยาธาตุ ยาเจริญอาหาร ยาขับลม ยาแก้ปวดท้อง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.4.3 กรดเมต้าเคามาริค (*m*-coumaric) และกรดซินนามิค ในสารสกัดพริกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimurium* และ *Bacillus cereus* (Dorantes *et al*., 2000)

5.4.4 ลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในหนูทดลอง (สถาบันการแพทย์แผนไทย, 2542)

5.4.5 สารสกัดพริกเป็นสารต้านออกซิเดชัน (Wangcharoen and Morasuk, 2007a,b)

5.4.6 แคปแซนธินในพริกมีคุณสมบัติในการยับยั้งมะเร็ง (anti-tumor) (Maoka *et al*., 2001)

ส่วนที่ใช้ เมล็ด ยอดและใบ

ประโยชน์ทางด้านอาหาร พริกเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรสที่จะขาดไม่ได้ในอาหารไทย พริกที่นิยมนำมาใช้ในอาหารไทย คือพริกขี้หนู พริกชี้ฟ้า พริกเหลือง พริกหยวก พริกเป็นเครื่องปรุงแต่งกลิ่นรส และเพิ่มความเผ็ดร้อนในอาหาร สามารถใช้ในรูปพริกสด พริกแห้ง พริกป่น ดองกับน้ำส้มสายชู เป็นส่วนประกอบหลักของเครื่องแกงน้ำพริกต่างๆและอาหารประเภทยำ พล่า ต้มยำ ต้มข่า ผัดเผ็ด เป็นต้น ใบและยอดอ่อนพริกชี้ฟ้าใช้รับประทานเป็นผักได้

5.4 มะกรูด

ชื่อวิทยาศาสตร์ *Citrus hystrix* DC.

วงศ์ RUTACEAE

ชื่อสามัญ Kaffir lime

ลักษณะทางพฤษศาสตร์ มะกรูดเป็นไม้ยืนต้นขนาดย่อม ตามกิ่งก้านมีหนามแหลมใบเขียวหนาภายในใบมีต่อมน้ำมันอยู่ทั่วไป ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพืชในตระกูลนี้ ดอกมีสีขาว เกสรสีเหลือง มีกลิ่นหอมเล็กน้อย ผลมะกรูดมีผิวขรุขระทั้งผล ที่ขั้วมีจุก

ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ ใบและผิวมะกรูดมีน้ำมันหอมระเหยประมาณร้อยละ 0.08 และ 4.00 ตามลำดับ โดยสารสำคัญที่พบในใบ ได้แก่ ซิโทรเนลลาล (citronellal) ส่วนในผิวผลพบเบต้าไพนีนและลิโมนีนเป็นสารสำคัญ (นิจศิริ เรืองรังษี, 2545) นอกจากนี้พบว่ามีวิตามินซี กรดซิตริก ซึ่งมีคุณสมบัติในการช่วยขับลม แก้ไอ ขับเสมหะ Berhow และคณะ (1996) พบว่าใบมะกรูดประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวโนนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูทิน กลูโคไซด์ (narirutin-4'-glucoside) อีริซิทริน (ericitrin) นีโออีริโอซิทริน (neoeriocitrin) นาริรูทิน (narirutin) เฮสเพอร์ริดิน (hesperidin) นีโอเฮสเพอร์ริดิน (neohesperidin) และดิไดมิน (didymin) และฟลาโวน/ออลไกลโคไซด์ (flavone/ol glycosides) ได้แก่ รูทิน (rutin) ซึ่งฟลาโวนอยด์เป็นสารที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน Siripongvutikorn และคณะ (2005) รายงานว่าใบมะกรูดเป็นแหล่งของเบต้าแคโรทีนในต้มยำ ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยมีปริมาณ 173.60 ± 61.45 กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง นอกจากนี้ Hutadilok-Towatana และคณะ (2006) พบว่าสารสกัดใบมะกรูดและผิวมะกรูดด้วยเมธานอล มีคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสูงที่สุด โดย IC_{50} ในการยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลสามารถเรียงลำดับได้ดังนี้ ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC. leaf) > ผิวมะกรูด (*Citrus hystrix* DC. Peel) > ว่านกีบแรด (*Angiopteris evecta* Hoffm.) และใบบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn leaf) > หญ้าพันงูเขียว (*Stachytarphera indica* (L.) Vahl) > เกสรบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn. Pollen) > ปีบฝรั่ง (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm.) > ชะพลู (*Piper sarmentosum* Roxb.) > ผักเบี้ยใหญ่ (*Portulaca oleracea* Linn.) > เมล็ดบัวหลวง (*Nelumbo nucifera* Gaerttn. seeds head)

มีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากผิวและใบมะกรูด สามารถออกฤทธิ์ต้านแบคทีเรียหลายชนิด รวมทั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella* spp. และ *Salmonella typhimurium* (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527; Nanasombat and Lohasupthawee, 2005) โดยสารที่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ได้แก่ เจอร์ราไนออล นีโรไลดอล (nerolidol) ไอโซพูทีกอล (isoputegol) ลินาลูลและเทอร์พีนิออล (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2527)

ส่วนที่ใช้ ใบและผล

ประโยชน์ทางด้านอาหาร ผิวผลมะกรูดใช้เป็นเครื่องปรุงในน้ำพริกแกงต่างๆ ผลมะกรูดผ่าซีกใส่ในน้ำพริกขนมจีน แกงคั่ว ใบมะกรูดใส่ในต้มยำ แกงเผ็ดและหลนต่างๆ ใบมะกรูดหั่นฝอยโรยหน้าในห่อหมก ปลาฉู่ฉี่

6. ปัจจัยที่มีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากเครื่องเทศ

6.1 พีเอช

เนื่องจากหมู่ไฮดรอกซิลในแต่ละตำแหน่งของสารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงพีเอชมีผลให้หมู่ไฮดรอกซิลเกิดการเปลี่ยนแปลง ส่งผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในเครื่องเทศ (Jackman and Smith, 1996) Slabbert (1997 อ้างโดย Mukai *et al*, 1997) พบว่า pKa ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 7 และ 5 (7- and 5-OH group) ของวงแหวนเอของรูทิน มีค่าประมาณ 6.74-7.07 และ 11.55 ตามลำดับ ส่วน pKa ของหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งที่ 3′ และ 4′ (3′- and 4′-OH group) ของวงแหวนบี มีค่าเท่ากับ 8.77-9.02 และ 13.20-13.25 ตามลำดับ ดังนั้นในสารละลายที่พีเอชต่างๆ รูทิน แตกตัวแสดงดัง Figure 18

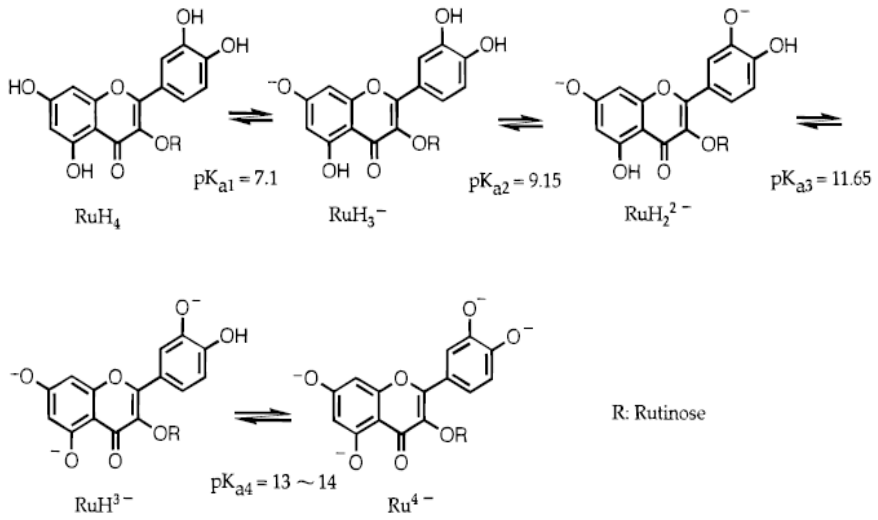


Figure 18. Five different molecular forms (RuH_4, RuH_3^-, RuH_2^{2-}, RuH^{3-}, and Ru^{4-}) of rutin in aqueous solution

ที่มา: ดัดแปลงจาก Mukai และคณะ (1997)

สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ แสดงสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกลางหรือกรด เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่น (bound phenolics) เกิดการปลดปล่อย (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005) เช่น การเกิดไฮโดรไลซิสของพันธะกลูโคซิดิค (glucosidic bonds) ของโพลีฟีนอล (Oreopoulou, 2003) และในสภาวะที่เป็นด่างสารประกอบฟีนอลิกจะเปลี่ยนเป็นควิโนน ซึ่งไม่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Brooks *et al*., 1972 อ้างโดย Yen and Hung, 2000)

Amorati และคณะ (2006) พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ (phenolic acid and ester) ขึ้นอยู่กับพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ เมื่อพีเอชเป็นกรด (พีเอช 4) กรดฟีนอลิกและเอสเทอร์สามารถยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันได้น้อย ความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น และเมื่อพีเอชมีค่าเท่ากับ 8 ความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันดีกว่าโทรลอกซ์ (trolox) 2-3 เท่า เนื่องจากพีเอชเป็นด่างกรดคาฟเฟอิคอยู่ในรูปของฟีนอเลทไอออน (phenolate ion) ซึ่งแสดงความสามารถในการยับยั้งเพอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่ารูปแบบปกติ ดังแสดงใน Figure 19

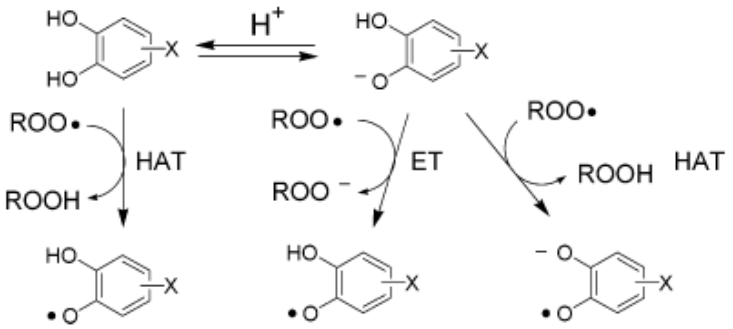


Figure 19. Mechanism for the reaction of catechols with peroxyl radicals
ที่มา: Amorati และคณะ (2006)

Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดของข่าด้วยเอธานอลมีความคงตัวที่พีเอชเป็นกลางมากกว่ากรด ในสภาวะที่เป็นกลางสารสกัดข่ามีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันสูงกว่ากรด โดยสารสกัดข่ามีกิจกรรมในการจับซุปเพอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion scavenging activity) จับเฟอร์รัสไอออน (Fe^{2+} chelating activity) และรีดิวส์ซิงพาวเวอร์ (reducing power) สูง การต้านออกซิเดชันของข่ามีความสัมพันธ์กับรีดิวส์ซิงพาวเวอร์ นอกจากนี้สารสกัดข่ามีคุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระและยับยั้งเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส

Mansour และ Khalil (2000) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดขิง เมล็ด fenugreek และเปลือกมันฝรั่ง ที่ผ่านการทำแห้งแบบฟรีสซ์ดรายด์ (freeze dried) พบว่าสารสกัดขิงและเมล็ด fenugreek มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่พีเอช 7.0 ส่วนสารสกัดเปลือกมันฝรั่งมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่พีเอช 5.0-6.0 และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลงที่พีเอชเป็นกลางและด่าง

Binsan (2007) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของส่วนที่ละลายน้ำได้ของมันกุ้งมีความคงตัวที่พีเอช 2-8 แต่เมื่อพีเอชมากกว่า 8 (พีเอชเท่ากับ 9-11) ความสามารถในการการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง

เล็กน้อย ในขณะที่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าที่พีเอชเป็นด่าง ส่วนที่ละลายน้ำได้ของมันกุ้งจะถูกกระตุ้น ให้มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS เพิ่มขึ้น แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ลดลง

Friedman และ Jurgens (2000) ศึกษาผลของพีเอชในช่วง 3-11 ต่อความคงตัวของกรดคาฟเฟอิค คาเทชิน กรดคลอโรจีนิค กรดฟีรูลิค กรดแกลลิก เอพิแกลโลคาเทชิน รูทีน และกรดทรานซินนามิค พบว่ากรดคาฟเฟอิค กรดคลอโรจีนิคและกรดแกลลิก ไม่คงตัวที่พีเอชสูง สารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรเมติกหลายวง (multiring aromatic) เช่น คาเทชิน เอพิแกลโลคาเทชิน และรูทีน มีความคงตัวมากกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวนอะโรเมติก 1 วง (monoring) เนื่องจากมีโครงสร้างที่ซับซ้อนกว่า

Liyana-Pathirana และ Shahidi (2005) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS การจับโลหะและการไฮโดรไลซิสของ LDL (low density lipoprotein) ของสารสกัดข้าวสาลีด้วยน้ำ มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อมีการกระตุ้นด้วยพีเอชที่เหมือนในกระเพาะอาหาร (พีเอชเท่ากับ 2)

6.2 ความร้อน

ความร้อนส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง เนื่องจากความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล ฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคามาริค กรดคาฟเฟอิค กรดฟีรูลิคและกรดซินาพิค ระเหยกลายเป็นไอ ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน (C6-C3-C6) (Table 5) ความร้อนส่งผลให้ฟลาโวนอยด์มีการแตกหักของวงแหวนซีและทำให้เกิดการสลายตัว โดยวงแหวนบีจะเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก และวงแหวนเอจะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ ตามลำดับ (Jackman and Smith, 1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Pratt,1992)

Crozier และคณะ (1997) พบว่าการทอด การต้มให้เดือด และการใช้ไมโครเวฟทำให้เควอร์ซิทินในมะเขือเทศและหอมลดลง เนื่องจากเควอร์ซิทินเกิดการแตกหัก เกิดโครงสร้างที่ซับซ้อนขึ้นหรือเกิดการละลายของเควอร์ซิทินลงในน้ำในขณะต้มให้เดือด Hamama และ Nawar (1991) รายงานว่าเมื่อให้ความร้อนแก่ BHA (butylated hydroxyanisole), BHT, TBHQ (tertiary butylhydroquinone) และโพรพิลแกลเลต (propyl gallate) ที่อุณหภูมิ 185 ^{0}ซ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง พบว่ามีการสูญเสียกิจกรรมการต้านออกซิเดชันร้อยละ 20.4, 37.1, 42.8 และ 47.7 ตามลำดับ ส่วน Prasad และคณะ (1996) ศึกษาอิทธิพลของความร้อนต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดกระเทียม พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลงร้อยละ 10 เมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 ^{0}ซ เป็นเวลา 20, 40 และ 60 นาที นอกจากนี้ มีการวิจัยพบว่าการอบใบหม่อน (Mulberry, *Morus alba* L.) ด้วยอุณหภูมิ 70 ^{o}ซ หรือมากกว่า ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกและ

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุมคือใบหม่อนที่ผ่านการฟรีสซ์ดรายด์ เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการสลาย (degradation) ของสารประกอบโพลีฟีนอลิก และพบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 40, 60 และ 80 °ซ เป็นเวลา 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดใบหม่อนด้วยน้ำมีค่าลดลง นอกจากนี้การเติมกรดฟอร์มิคร้อยละ 0.1 ในสารสกัด สามารถป้องกันการลดลงของปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลิกทั้งหมดได้ (Katsube *et al*., 2009) สอดคล้องกับการทดลองของ Larrauri และคณะ (1997) ศึกษาผลของความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 100 และ 140 °ซ ต่อปริมาณโพลีฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกองุ่นแดง (red grape pomace peels) พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 140 °ซ ส่งผลให้ปริมาณโพลีฟีนอลิกทั้งหมด คอนเดนส์แทนนิน (condensed tannins) และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง เมื่อเทียบกับชุดควบคุมคือเปลือกองุ่นแดงที่ทำแห้งแบบฟรีสซ์ดรายด์

อย่างไรก็ตามความร้อนอาจทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้น Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการให้ความร้อนแก่สารสกัดกระเทียม ขิง กานพลู อบเชยและพริกไทยด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ไม่เพียงแต่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันยังคงอยู่ แต่พบว่าทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนสารต้านออกซิเดชันที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมา ทำให้มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น Jeong และคณะ (2004) ศึกษาผลของความร้อนและเวลาในการให้ความร้อน (50, 100 และ 150 °ซ เป็นเวลา 10, 20, 30, 40, 50 และ 60 นาที) ต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกส้ม พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเปลือกส้มมีค่าสูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดเปลือกส้มที่ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 150 °ซ เป็นเวลา 60 นาที ด้วยเอธานอล มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระและรีดิวซิงพาวเวอร์ (ค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร) เพิ่มขึ้นจาก 71.8 เป็น 171.0 ไมโครโมลาร์ จากร้อยละ 29.64 เป็น 64.25 และจาก 0.45 เป็น 0.82 ตามลำดับ การเพิ่มขึ้นของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันนี้ เกิดจากความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเปลือกส้มซึ่งอยู่ในรูปที่จับอยู่กับองค์ประกอบในผนังเซลล์ เช่น อะราบิโนไซแลน (arabinoxylans) และโปรตีน เกิดการปลดปล่อยเป็นสารประกอบฟีนอลิกอิสระ สอดคล้องกับการทดลองของ Xu และคณะ (2007) ที่พบว่าการให้ความร้อนแก่เปลือกส้ม (Changshanhuyou, *Citrus paradisi*) ที่อุณหภูมิ 120 °ซ เป็นเวลา 30, 60 และ 90 นาที และที่อุณหภูมิ 90 และ 150 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ส่งผลให้กรดฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากมีการสลายพันธะเอสเทอร์และไกลโคไซด์ โดยความร้อนส่งผลให้ปริมาณของกรดฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระมีค่าเพิ่มขึ้น ในขณะที่ฟีนอลิกที่เป็นเอสเทอร์ ไกลโคไซด์ และส่วนที่เชื่อมกับเอสเทอร์มีค่าลดลง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลรวมของกรดฟีนอลิกที่วิเคราะห์ทั้งสี่รูปแบบ คือฟีนอลิกอิสระ เอสเทอร์ ไกลโคไซด์ และส่วนที่เชื่อมกับเอสเทอร์ มีค่าลดลงหลังให้ความร้อน แสดงให้เห็นว่ากรดฟีนอลิกบางตัวถูก

ทำลายเนื่องจากความร้อน ถึงแม้ว่าปริมาณของกรดฟีนอลิกในรูปอิสระจะเพิ่มขึ้นก็ตาม นอกจากนี้ พบว่าความร้อนส่งผลให้ฟลาโวโนนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูทิน นารินจิน เฮสเพอร์ริดิน และนีโอเฮสเพอร์ริดิน ซึ่งเป็นฟลาโวนอยด์หลักที่พบในเปลือกส้มมีค่าลดลง แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP พบว่าความร้อนส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น

Arabshahi-Delouee และคณะ (2007) ศึกษาผลของการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 15 นาที ต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดใบมะรุม (drumstick leaves, *Moringa oleifera*) ใบมินต์ (mint leaves, *Mentha spicata*) และแครอท (carrot tuber, *Daucus carota*) ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่าความร้อนทำให้สารสกัดใบมินต์ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ในขณะที่สารสกัดใบมะรุมด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง และพบว่าความร้อนไม่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแครอทด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ดังนั้น การลดลงของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสารสกัดใบมะรุมด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีผลมาจากการสูญเสียสารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัดหรือการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรออกซิเดนซ์ เช่น ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction products) ส่วนการเพิ่มขึ้นของกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในสารสกัดใบมินต์ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เกิดจากความร้อนทำให้เกิดการสร้างสารประกอบที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชัน เช่น ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด หรือปรับปรุงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันที่พบในสารสกัด นอกจากนี้มีรายงานว่าสารสกัดครูซิเฟอร์ (crucifer) เป็นได้ทั้งสารต้านออกซิเดชันและโปรออกซิเดนซ์ ขึ้นอยู่กับกระบวนการให้ความร้อนและความผันแปรของพืชที่ใช้ในการศึกษา (Castenmiller *et al*., 2002)

Eriksson และ Na (1995) รายงานว่าแม้ว่าในอาหารจะพบสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มของเอนไซม์ เช่น เอนไซม์ซุปเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส กลูทาไธโอนเพอร์ออกซิเดส กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) และคะทะเลส (catalase) แต่ส่วนใหญ่เอนไซม์เหล่านี้จะถูกทำให้เสื่อมสภาพ (inactive) เนื่องจากความร้อนในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร ในขณะที่สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น สารในกลุ่มแคโรทีนอยด์ โทโคฟีรอลและสารประกอบฟีนอลิกสามารถทนต่อความร้อนที่ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหารได้ดี นอกจากนี้ปฏิกิริยาบางปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปอาหาร เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ปฏิกิริยาย่อยสลายโปรตีน (protein hydrolysis) และกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียแลคติก ทำให้เกิดสารประกอบบางชนิดที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน

Yamaguchi และคณะ (2003) พบว่าการให้ความร้อนแก่บร๊อคโคลี (broccoli, *Brassica oleracea* L. var. *italica* PLENCK) เบอร์ดอค (burdock, *Arctium lappa* L.) และผักกาดหอม (lettuce, *Lactuca sativa* L.) ส่งผลให้กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ ฟีนอลิกทั้งหมด กรดคลอโรจีนิค และกรดแอสคอร์บิค มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน เนื่องจากความร้อนไปทำลายเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและแอสคอร์เบทออกซิเดส (ascorbate oxidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของโพลีฟีนอลิกและกรดแอสคอร์บิค ส่งผลให้กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระลดลง (Takamura *et al*., 2002 อ้างโดย Yamaguchi *et al*., 2003) Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลทนความร้อนที่อุณหภูมิ 80^0ซ ได้นาน 60 นาที

6.3 ระบบของการสกัด

วิธีการสกัดสารต้านออกซิเดชันในพืชที่นิยมใช้คือการสกัดแบบ solid-liquid extraction ซึ่งเป็นการใช้ตัวทำละลาย ไปละลายและนำส่วนที่ละลายได้ (ตัวถูกละลาย) ออกจากพืชซึ่งเป็นของแข็งที่มีลักษณะเป็นรูพรุน (Gertenbach, 2002)

การถ่ายโอนมวลจากพืชสู่ตัวทำละลายเกิดขึ้น 4 ขั้นตอน (Figure 20) คือ

1. การแพร่ของตัวทำละลายเข้าสู่อนุภาคของพืชผ่านทางโครงสร้างที่มีลักษณะเป็นรูพรุน

2. สารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในพืชจะละลายในตัวทำละลายที่แพร่เข้าสู่อนุภาค

3. การแพร่ของสารต้านออกซิเดชันจากภายในอนุภาคสู่ผิวหน้าของอนุภาคผ่านทางรูพรุนในเซลล์พืช

4. การชะสารต้านออกซิเดชันที่ละลายในตัวทำละลายจากบริเวณผิวหน้าของอนุภาค สู่ตัวทำละลายที่อยู่รอบๆอนุภาค

การสกัดจะหยุดเมื่อความเข้มข้นของเหลวถึงจุดสมดุล

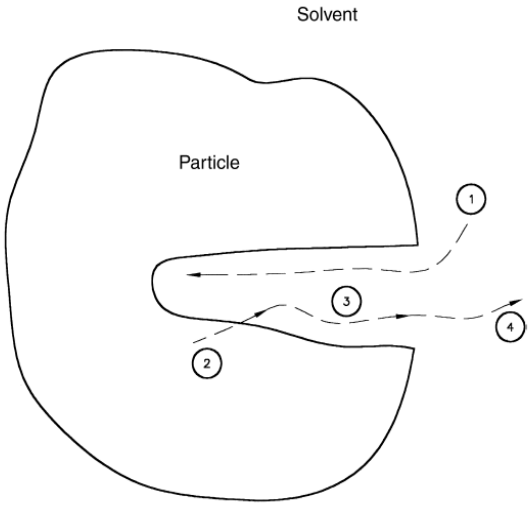


Figure 20. Mechanism of mass transfer: (1) solvent soaks into the pores within the particle, (2) solute dissolves into the solvent within the pores of the particle, (3) dissolved solute migrates to the surface of the particle, and (4) dissolved solute at the particle surface diffuses into the bulk solvent

ที่มา: Gertenbach (2002)

ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่

6.3.1 ตัวทำละลาย

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย เช่น เมธานอล เอธานอล และอะซิโตน นิยมใช้ในการแยกหรือสกัดสารต้านออกซิเดชันในพืช (Velioglu *et al*., 1998; Kahkonen *et al*., 1999; Zielinski and Kozlowska, 2000) ความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิกในตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัด มีอิทธิพลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่งความเป็นขั้วของตัวทำละลาย ซึ่งมีบทบาทต่อความสามารถในการละลายของสารประกอบฟีนอลิก (Naczk and Shahidi, 2006) โดยผลผลิตที่ได้ (extraction yield) และคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของสารสกัดขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย เนื่องจากความเป็นขั้วที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ทำให้สารที่สกัดได้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (Marinova and Yanishlieva, 1997) ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารที่มีอยู่ในเครื่องเทศ ได้แก่ เฮกเซน (hexane) ปิโตรเลียมอีเธอร์ (petroleum ether) คลอโรฟอร์ม (cholroform) อีเธอร์ (ether) เมธานอลและเอธานอล โดยเฮกเซนและปิโตรเลียมอีเธอร์ ใช้สกัดสารประกอบที่ไม่มีขั้ว (non polar component) ที่มีอยู่ในเครื่องเทศ เช่น ไขมัน สเตียรอยด์ (steroids) เทอร์พีนอยด์ (terpenoids) เป็นต้น ในขณะที่คลอโรฟอร์มและอีเธอร์

จัดเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วปานกลาง ใช้สกัดองค์ประกอบที่ไม่มีขั้วไปจนถึงมีขั้วปานกลาง ส่วนเมธานอลและเอธานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดสารสำคัญที่มีขั้วค่อนข้างสูง (polar active component) (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2545) ฟลาโวนอยด์ที่มีขั้วน้อย เช่น ไอโซฟลาโวน ฟลาโวโนน เมธิลเลทฟลาโวนและฟลาโวนอล สามารถสกัดออกมาโดยใช้คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเธน ไดเอทธิลอีเธอร์ หรือเอทธิลอะซีเทต ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์และอะไกลโคน (aglycones) ที่มีขั้วสูง สามารถสกัดออกมาโดยใช้แอลกอฮอล์หรือแอลกอฮอล์ผสมน้ำ เนื่องจากไกลโคไซด์เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารประกอบฟีนอลิก (Marston and Hostettmann, 2006)

นอกจากนี้พบว่าสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว (Moller *et al.*, 1999) และตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วสูงกว่ามีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว (Oreopoulou, 2003) Suzuki และคณะ (2002 อ้างโดย Katsube *et al*., 2009) พบว่าเอธานอลและเมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 40-80 มีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าน้ำ เอธานอลและเมธานอล แต่อย่างไรก็ตามการเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ในการสกัดและวัตถุประสงค์ของการสกัด เช่น ธรรมชาติของสารต้านออกซิเดชันที่สนใจในวัตถุดิบ (Oreopoulou, 2003) การหาได้ง่ายของตัวทำละลายและอุปกรณ์ที่ใช้ในการสกัด ราคาและความปลอดภัย เป็นต้น (Yu *et al*., 2002) อย่างไรก็ตาม สารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำเป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช (Bahorun *et al*., 2004; Durling *et al*., 2007) เนื่องจากสารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกในช่วงกว้างได้ นอกจากนี้เอธานอลยังยอมรับให้ใช้ในการบริโภคของมนุษย์

Julsrigival และคณะ (2006) ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชในวงศ์ *Zingiberaceae* 5 ชนิด ได้แก่ ข่า ขมิ้นชัน ขมิ้นขาว ไพล และไพลดำ ด้วยน้ำและเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 (สกัดโดยวิธีการสกัดอย่างต่อเนื่อง) และน้ำมันหอมระเหย (เตรียมโดยการกลั่นด้วยน้ำ) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน ผลการทดลองพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขมิ้นชันด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 น้ำมันหอมระเหยของไพล และสารสกัดไพลด้วยน้ำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในแต่ละกลุ่ม (สารสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 น้ำมันหอมระเหย และสารสกัดด้วยน้ำ) โดยมีค่าเท่ากับ 187.543, 56.469 และ 32.058 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ สารสกัดของข่าด้วยเอธานอลและน้ำและน้ำมันหอมระเหย มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 82.321, 13.064 และ 0.560 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ

กฤติกา นรจิตร (2548) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยใช้เทคนิค GC-MS ในน้ำมันหอมระเหยของข่าที่สกัดโดยการกลั่นด้วยไอน้ำ และใช้ตัวทำละลาย ได้แก่ ปิโตรเลียมอีเธอร์และเอธานอลและสกัดด้วยปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดกากที่เหลือด้วยเอธานอล พบว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่น มีปริมาณของเมธิลชาวิคอลมากที่สุด รองลงมาคือ ซินีโอล และอัลฟาฟาร์นีซีน ซึ่งมี % relative peak area เท่ากับ 37.9, 33.6 และ 5.9 ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากปิโตรเลียมอีเธอร์ ปิโตรเลียมอีเธอร์แล้วสกัดกากที่เหลือด้วยเอธานอลและเอธานอลพบฟราอีซีออล เป็นสารประกอบหลัก โดยมี % relative peak area เท่ากับ 49.8, 68.2 และ 74.6 ตามลำดับ องค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหยของข่าที่ได้จากการสกัดแบบต่างๆ มีองค์ประกอบที่แตกต่างกันดังแสดงใน Table 7

Table 7. Percentage of relative peak areas of volatile compounds in galangal extracts

Compound	% relative peak area			
	Hydrodistillation	Petroleum ether	Petroleum and ethanol*	Ethanol
1,8-cineole	33.6	4.1	2.4	3.3
Methyl chavicol	37.9	-	-	-
Camphor	4.5	16.0	9.8	5.0
β-thujene	0.7	2.4	-	-
Caryophyllene	4.2	5.9	7.4	1.5
β-farnesene	4.2	4.6	4.8	1.8
Elemene	1.2	3.5	-	0.3
β-selinene	3.0	2.4	2.2	1.6
α-farnesene	5.9	6.7	2.4	5.3
α-selinene	4.2	4.3	2.0	2.4
Cadinene	0.8	0.5	-	-
Fraeseol	-	49.8	68.2	74.6
Eugenol acetate	-	-	0.8	4.2

* Secondary extraction with ethanol of plant residue after extraction by petroleum ether

ที่มา: กฤติกา นรจิตร (2005)

จาก Table 7 เห็นได้ว่าเมธิลชาวิคอลพบเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากการกลั่น ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายไม่พบสารดังกล่าว ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเมธิลชาวิคอลมีความเป็นขั้วมากและมีปริมาณน้อย จึงละลายออกมากับตัวทำละลายได้ยาก ในทางตรงกันข้ามพบฟราอีซีออลเฉพาะในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้จากตัวทำละลายเท่านั้น ทั้งนี้อาจเป็นเพราะสารดังกล่าวมีความเป็นขั้วน้อย น้ำจึงไม่สามารถสกัดออกมาได้หรืออาจมีการสูญหายไปในระหว่างขั้นตอนการสกัด

Nishi และคณะ (1991) พบว่าสารสกัด *Rumex japonicus* Houtt ด้วยเฮกเซนมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าสารสกัดเอทธิลอะซิเทต (ethyl acetate) และคลอโรฟอร์ม ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำและบิวธานอล (n-butanol) ไม่มีกิจกรรมในการต้านออกซิเดชัน

Sultana และคณะ (2009) ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายและเทคนิคที่ใช้ในการสกัด ต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของส่วนต่างๆของพืชที่ใช้เป็นยา ได้แก่ เปลือกสะเดาอินเดีย (*Azadirachta indica*) อาเคเซีย (*Acacia nilotica*) หว้า (*Eugenia jambolana*) สมอเทศ (*Terminalia arjuna*) ใบและรากของมะรุม (*Moringa oleifera*) ผลของต้นโพธิ์ (*Ficus religiosa*) และใบของว่านหางจระเข้ (*Aloe barbadensis*) โดยตัวทำละลายที่ใช้คือเอธานอลบริสุทธิ์ เมธานอลบริสุทธิ์ สารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำ (เอธานอลต่อน้ำเท่ากับ 80 ต่อ 20 ปริมาตรต่อปริมาตร) และสารผสมระหว่างเมธานอลและน้ำ (เมธานอลต่อน้ำเท่ากับ 80 ต่อ 20 ปริมาตรต่อปริมาตร) วิธีการสกัดที่ใช้คือการเขย่าและรีฟลักซ์ (reflux) พบว่าการใช้สารผสมระหว่างเอธานอลและน้ำและสารผสมระหว่างเมธานอลและน้ำ ทำให้สารสกัดที่ได้มีผลผลิต ปริมาณฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน สูงกว่าการใช้เอธานอลและเมธานอลบริสุทธิ์ นอกจากนี้พบว่าการสกัดโดยใช้วิธีรีฟลักซ์ ทำให้ได้ผลผลิตสูงกว่าการสกัดโดยใช้การเขย่า แต่ปริมาณฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดที่ได้จากการเขย่าสูงกว่าการสกัดโดยวิธีรีฟลักซ์

Chen และคณะ (1992) ศึกษาผลของการสกัดโรสแมรี (rosemary) ด้วยตัวทำละลายต่างกัน 3 ชนิด คือ เฮกเซน อะซิโตน และเมธานอล ต่อปริมาณองค์ประกอบหลัก คือคาร์โนซอล (carnosol) กรดคาร์โนซิค (carnosic acid) และกรดยูโซลิก (ursolic acid) ซึ่งวิเคราะห์โดยใช้ HPLC-MS (High performance liquid chromatography -mass spectrometry) และศึกษาความสามารถในการป้องกันการหืนของสารสกัดจากโรสแมรีและองค์ประกอบหลักทั้ง 3 ชนิด พบว่าอะซิโตนมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบที่มีสมบัติเป็นสารกันหืนจากโรสแมรีมากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าทั้งคาร์โนซอลและกรดคาร์โนซิค มีความสามารถในการป้องกันการหืนได้ดีกว่า BHA และ BHT และพบว่าสารสกัดโรสแมรีด้วยเฮกเซนและอะซิโตนมีความสามารถป้องกันการหืนสูงกว่า BHA และ BHT ในขณะที่สารสกัดโรสแมรีด้วยเมธานอล

มีความสามารถป้องกันการหืนสูงกว่า BHA แต่น้อยกว่า BHT เนื่องจากความสามารถในการป้องกันการหืนของสารสกัดโรสแมรีขึ้นอยู่กับปริมาณของคาร์โนซอลและกรดคาร์โนซิค แสดงว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อสารที่มีสมบัติในการต้านออกซิเดชันในสารสกัด

6.3.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

อุณหภูมิมีผลต่อจุดสมดุลและอัตราการถ่ายโอนมวลของกระบวนการสกัด กล่าวคือเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น ความสามารถในการละลายได้ของสารประกอบสู่ตัวทำละลายจะมีค่าสูงขึ้น และอุณหภูมิยังมีบทบาทสำคัญต่ออัตราการสกัด อุณหภูมิสูงทำให้อัตราการสกัดสูง เนื่องจากสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าสูง แต่อย่างไรก็ตามอุณหภูมิสูง อาจทำให้สารต้านออกซิเดชันที่ไม่ทนร้อนเกิดการเสื่อมสลายได้ ดังนั้นจึงควรเลือกอุณหภูมิในการสกัดที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มอัตราการสกัดและไม่ทำให้สารที่ต้องการเกิดการเสื่อมสลาย

Cacace และ Mazza (2003) พบว่าเมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดแอนโธไซยานิน (anthocyanins) จาก black currants โดยใช้เอธานอลและสารละลายซัลเฟอร์เพิ่มขึ้นจาก 6 เป็น 30°ซ ส่งผลให้ผลผลิตของแอนโธไซยานินมีค่าเพิ่มขึ้นและเวลาที่ใช้ในการสกัดลดลง แต่เมื่ออุณหภูมิของการสกัดเพิ่มสูงขึ้นเป็น 40 และ 70°ซ พบว่าผลผลิตของแอนโธไซยานินมีค่าลดลง เนื่องจากแอนโธไซยานินเกิดการสลายเนื่องจากความร้อน

6.3.3 ขนาดของอนุภาค

อัตราการสกัดมีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อขนาดของอนุภาคลดลง เนื่องจากอนุภาคที่เล็กทำให้ระยะทางที่ตัวละลายออกสู่พื้นผิวมีค่าลดลง

6.3.4 อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่าง

การใช้ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นทำให้สามารถสกัดสารได้มากขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงขับเคลื่อน (driving force) ในระหว่างการถ่ายโอนมวล (mass transfer) ภายในอนุภาคของตัวอย่าง (Cacace and Mazza, 2003) และสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusivity) มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของตัวอย่าง (solid interface) และตัวทำละลาย (bulk of the liquid) มีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al*., 2004b) ส่งผลให้สารในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น

Naczk และ Shahidi (1991) และ Naczk และคณะ (1992) อ้างโดย Naczk และ Shahidi (2006) พบว่าเมื่อเปลี่ยนอัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายจาก 1:5 เป็น 1:10 ส่งผลให้สกัดคอนเดนซ์แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด จากกากคาโนลาด้วยอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 70 ได้เพิ่มขึ้น โดยคอนเดนซ์แทนนิน มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 257.3 เป็น 321.3 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 773.5 เป็น 805.8 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของตัวอย่าง Cacace และ Mazza (2003) พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลาย (เอธานอลและสารละลายซัลเฟอร์) ต่อตัวอย่างมีค่าสูงขึ้น จาก 6 มิลลิลิตรต่อกรัม เป็น 74 มิลลิลิตรต่อกรัม สามารถทำให้สกัดแอนโธไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จาก milled berries ได้มากขึ้น Pinelo และคณะ (2004b) สกัดสารต้านออกซิเดชันจากเปลือกอัลมอนด์ (almond hulls, *Prunus amygdalus*) และขี้เลื่อยของต้นสน (pine sawdust, *Pinus pinaster*) ด้วยเมธานอล เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 96 และน้ำกลั่นที่ปรับพีเอชให้เท่ากับ 4 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก พบว่าเมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สารที่สกัดออกมาได้ทั้งหมด (total extractables) มีค่าเพิ่มขึ้น

6.4 รูปแบบของการนำไปประยุกต์ใช้

Juntachote และคณะ (2007) รายงานว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันในระบบ DPPH ดีกว่าข่าผง แต่เมื่อนำมาประยุกต์ใช้กับเนื้อหมูบดกลับพบว่า การใช้ข่าผงสามารถลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งวัดในรูป TBARS (thiobarbituric acid reactive substances) และ POV (peroxide value) ได้อย่างมีประสิทธิภาพกว่าการใช้สารสกัด ซึ่งอาจเนื่องจากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายไม่สามารถสกัดสารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในข่าออกมาได้หมด นอกจากนี้อาจเกิดจากการสลายตัวของสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในระหว่างการสกัด

6.5 ชนิดของเครื่องเทศ

Siripongvutikorn และคณะ (2005) รายงานว่าปริมาณของเบต้าแคโรทีนในเครื่องเทศที่ใช้ในการทำเครื่องต้มยำมีความแตกต่างกัน โดยพบว่าพริก (สีแดง) และใบมะกรูดเป็นแหล่งที่สำคัญของเบต้าแคโรทีน โดยมีปริมาณ 204.7 ± 46.72 กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง และ 173.60 ± 61.45 กรัมต่อกิโลกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ

6.6 การเสริมฤทธิ์ (synergism)

Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการนำเครื่องเทศมาผสมกัน ได้แก่ หอม (4 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (2 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (2 มิลลิกรัม) ทำให้ความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเสริมฤทธิ์กัน

7. กุ้งขาวแวนนาไม

กุ้งขาวแวนนาไม หรือ “กุ้งขาวลิโทพีเนียส แวนนาไม” หรือ “กุ้งขาว” มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Litopenaeus vammamei* มีชื่อภาษาอังกฤษ คือ Whiteleg shrimp ค้นพบโดย Boone ในปี ค.ศ. 1931 เป็นสายพันธุ์กุ้งทะเลในกลุ่มกุ้งขาวแปซิฟิก (Pacific white shrimp) มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายในหลายประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เม็กซิโก กัวเตมาลา นิการากัว คอสตาริก้า ปานามา โคลัมเบีย เอกวาดอร์ เปรู ลักษณะเฉพาะตัวของกุ้งขาวแวนนาไม มี 8 ปล้องตัว ลำตัวสีขาว อกใหญ่ ส่วนหัวมี 1 ปล้อง มีกรียาวประมาณ 0.8 เท่าของความยาวเปลือก หัวสันกรีสูง ปลายกรีแคบ กรีด้านบนมี 8 ฟัน กรีด้านล่างมี 2 ฟัน ส่วนของกรีมีลักษณะเป็นสามเหลี่ยมมีสีแดง

อมน้ำตาล เปลือกหัวสีขาวอมชมพูถึงแดง (ดังFigure 21) กุ้งขาวแวนนาไมขยายพันธุ์ตามธรรมชาติในแถบแนวชายฝั่งตะวันออกของมหาสมุทรแปซิฟิก กุ้งชนิดนี้มีความแข็งแรงและทนทาน สามารถปรับตัวให้เข้าความเค็มในช่วงกว้างตั้งแต่ 0-35 ส่วนในพัน (ppt) แต่ละระดับความเค็มที่เจริญเติบโตได้ดีคือ 10-22 ส่วนในพันส่วน อุณหภูมิของน้ำที่เจริญเติบโตได้ดี คือ 26-29 องศาเซลเซียส แต่สามารถทำการเพาะเลี้ยงได้ในช่วงอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส ระดับออกซิเจนละลายน้ำ (D.O.) ควรมีค่า 4-9 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ควรอยู่ระหว่าง 7.2-8.6 ซึ่งอาจจะทำการเพาะเลี้ยงได้ทั้งในบริเวณพื้นที่ชายฝั่ง (Coastal area) หรือบริเวณพื้นที่ในแผ่นดินที่ลึกเข้ามาซึ่งเป็นเขตพื้นที่ที่มีความเค็มต่ำ (Inland area) (อาทินันท์ ประสมพงศ์, 2546) ในปี 2548 ประเทศไทยมีการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไม ร้อยละ 70 (อีกร้อยละ 30 เลี้ยงกุ้งกุลาดำ) เนื่องจากให้ผลตอบแทนทั้งด้านปริมาณผลผลิตและมูลค่าต่อพื้นที่สูงกว่า ทำให้เกษตรกรหันมาปรับปรุงระบบการเลี้ยงกุ้งขาวแวนนาไมมากขึ้น โดยผลผลิตกุ้งขาวแวนนาไมต่อหน่วยพื้นที่การผลิตสูงกว่ากุ้งกุลาดำประมาณ 3 เท่า (สำนักงานประมงจังหวัดสตูล, 2549)

Figure 21. Litopenaeus vannamei shrimp size 60-70 shrimp / kg.

8. ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งขาวแวนนาไมระหว่างเก็บรักษา

กุ้งเป็นสัตว์ทะเลที่เน่าเสียได้ง่าย เนื่องจากมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 75-82 มีค่า Water activity (a_w) มากกว่า 0.99 มีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 5.4-5.6 และมีสารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่ค่าโปรตีน (กรดอะมิโน) ในปริมาณสูง มีแร่ธาตุและวิตามินที่อุดมสมบูรณ์จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ปฏิกิริยาเคมีจากเอนไซม์ต่างๆ ในตัวกุ้งขาว ได้แก่ พอลิฟีนอลออกซิเดส โปรตีเนส และคอลลาจีเนสเป็นสาเหตุทำให้เนื้อกุ้งอ่อนตัว การเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีระหว่างการเก็บรักษากุ้งหรือเกิดจากน้ำย่อยของตัวสัตว์น้ำเอง (Autolysis) และจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตภายหลังการตายของกุ้ง โดยเมื่อกุ้งตายจะเกิดการเน่าเสียจากแบคทีเรียพวกที่ติดมากับผิว ได้แก่ *Bacillus, Micrococcus, Pseudomonas, Acinetobacter, Moraxella, Flavobacterium*, Alcaligenes และ Proteus นอกจากนี้จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการเน่าเสียของกุ้ง ได้แก่ *Pseudomonas, Moraxella, Alteromonas, Micrococcus และ Vibrio, Pseudomonas* sp. เป็นแบคทีเรียที่ทำให้กุ้งแช่เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0^{o}ซ เป็นเวลา 13 วัน เกิดการเน่าเสีย จำนวนแบคทีเรียทั้งหมดสามารถบอกถึงคุณภาพของกุ้ง โดยทั่วไปกุ้งที่มีคุณภาพดีจะมีจุลินทรีย์ไม่เกิน 10^6 โคโลนี/กรัม กุ้งที่มีคุณภาพปานกลางจะมีจุลินทรีย์ไม่เกิน 10^7 โคโลนี/กรัม กุ้งที่มีคุณภาพไม่ดีจะมีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า 10^7 โคโลนี/กรัม ปริมาณอินโดลที่พบในกุ้งสภาพต่างๆ ไม่เท่ากัน ในกุ้งสดจะไม่พบอินโดลแต่เมื่อกุ้งเริ่มเน่าเสียปริมาณอินโดลจะเพิ่มขึ้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2550) นอกจากนี้คุณภาพกุ้งอาจตรวจสอบได้จากสารเคมีที่เกิดขึ้น เช่น สารระเหยไตรเมทธิลอะมีน (TMA) หรือวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (วิลาวัลย์ เจริญตระกูล, 2537)

การเสื่อมเสียของกุ้ง การเปลี่ยนแปลงสีของเนื้อกุ้งและการอ่อนตัวของเนื้อกุ้งสามารถเกิดขึ้นได้แม้ที่อุณหภูมิต่ำทำให้มูลค่าของกุ้งลดลง ปัจจัยภายนอกที่มีผลต่อจำนวนแบคทีเรียและการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของกุ้งขาวแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับ สถานที่จับและวิธีการจับ นอกจากนี้ยังขึ้นกับกระบวนการผลิตซึ่งมีผลในการเพิ่มหรือลดจำนวนของแบคทีเรียในกุ้งได้อีกด้วย เช่น สภาวะการเก็บรักษา อุณหภูมิและระยะเวลาการเก็บรักษาก่อนนำมาแปรรูป อุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ ระยะเวลาในการผลิตและการรักษาอุณหภูมิให้สม่ำเสมอตลอดกระบวนการผลิต การบรรจุหีบห่อเพื่อปกป้องการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อมจากภายนอก อีกทั้งป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียโดยเก็บรักษาในสภาวะและอุณหภูมิที่เหมาะสมจะช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ จากการทดลองของ Shamshad และคณะ (1990) (อ้างโดย วิลาวัลย์ เจริญตระกูล, 2537) พบว่า กุ้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 0, 5, 10 และ 15^{o}ซ มีอายุการเก็บรักษาเท่ากับ 12-16, 8-12, 4-6 และ 1-3 วัน ตามลำดับ สำหรับกุ้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20, 25, 30 และ 35^{o}ซ มีอายุการเก็บรักษาเพียง 24-30, 18-24, 12-18 และ 6-12 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นการใช้เทคโนโลยีที่

เหมาะสม สามารถรักษาสภาพธรรมชาติของกุ้งเพื่อชะลอหรือลดการเสื่อมเสียของกุ้งก่อนเข้าสู่กระบวนการแปรรูปต่อไป

9. สภาวะการบรรจุและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

การบรรจุหีบห่อมีหลายวิธี เช่น (1) การบรรจุหีบห่อแบบสุญญากาศ (Vacuum packaging) ดูดอากาศในภาชนะบรรจุออกให้มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เหลืออยู่ร้อยละ 20-40 และออกซิเจนน้อยกว่าร้อยละ 1 โดยการบรรจุหีบห่อแบบสุญญากาศแนบผิว (Vacuum skin packaging) กล่าวคือฟิล์มพลาสติกที่ขึ้นรูปด้วยความร้อนแล้วจะถูกทำให้นิ่มลงด้วยความร้อน จากนั้นใช้สุญญากาศดูดฟิล์มให้แนบติดกับชิ้นผลิตภัณฑ์ อายุการเก็บของผลิตภัณฑ์โดยวิธีการบรรจุแบบนี้จะขึ้นกับชนิดและความเป็นกรด-ด่างของผลิตภัณฑ์ (มยุรี ภาคลำเจียก, 2544) (2) การบรรจุหีบห่อแบบดัดแปลงบรรยากาศ (Modified atmosphere packaging, MAP) การเก็บรักษาอาหารภายใต้สภาพบรรยากาศที่มีอัตราส่วนผสมของแก๊สชนิดต่างๆ ชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการบรรจุหีบห่อแบบ MAP สามารถควบคุมการซึมผ่านความชื้น ปริมาณแก๊สออกซิเจน แก๊สไนโตรเจน และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ตามที่ต้องการ โดยในกระบวนการบรรจุอากาศจะถูกกำจัดออกจากบรรจุภัณฑ์ก่อนและแทนที่ด้วยส่วนผสมของแก๊สที่กำหนด จากนั้นปิดผนึกด้วยความร้อน โดยการเปลี่ยนแปลงส่วนผสมของอากาศระหว่างการเก็บรักษา ขึ้นอยู่กับอัตราการหายใจของอาหารสด อุณหภูมิในการเก็บรักษา ความสามารถในการซึมผ่านไอน้ำและแก๊สของบรรจุภัณฑ์ ความชื้นสัมพัทธ์ภายนอกซึ่งมีผลต่อความสามารถในการซึมผ่านของฟิล์มบางชนิด และพื้นที่ผิวของบรรจุภัณฑ์ต่อปริมาณของอาหารที่บรรจุ (วิไล รังสาดทอง, 2547) ในบางครั้งจะบรรจุแก๊สเฉื่อย เช่น ไนโตรเจนแต่เพียงอย่างเดียวลงไปในภาชนะบรรจุ เพื่อรักษารูปร่างของผลิตภัณฑ์ไว้ สำหรับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์จำพวกเนื้อวัว หมูและปลา การปรับแต่งบรรยากาศไม่มีผลต่อกระบวนการเอนไซม์ของอาหาร แต่แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นจะช่วยลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ประเภทต้องการแก๊สออกซิเจนได้ เนื่องจากแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ทำปฏิกิริยากับน้ำในเนื้อเยื่อของอาหารได้กรดคาร์บอนิกซึ่งเป็นผลให้ความเป็นกรด-ด่างของอาหารลดลง และความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนที่ลดลงจะลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเหม็นหืนได้ แต่มีข้อเสีย คือ แก๊สออกซิเจนที่ลดลงหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้น ทำให้เนื้อแดงเกิดสีคล้ำ ไม่น่ารับประทาน ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีความเข้มข้นของแก๊สออกซิเจนในส่วนผสมของแก๊สด้วย (บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร, 2545b) การบรรจุแบบ MAP นิยมใช้แก๊สออกซิเจนในปริมาณต่ำ (ร้อยละ 20-0) เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศและลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและบรรจุแก๊สไนโตรเจนแทนแก๊สออกซิเจน โดยแก๊สไนโตรเจนเป็นแก๊สเฉื่อยหรือ

แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งปรับความเป็นกรด-ด่างให้ต่ำลง ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Wikipedia, 2008) ปัจจัยที่มีผลต่อการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ คือ 1) แก๊สที่นำมาบรรจุ ชนิดของแก๊สที่นำมาบรรจุ ได้แก่ แก๊สออกซิเจน และหรือแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ และหรือแก๊สไนโตรเจน โดยอัตราส่วนของแก๊สผสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์อาหาร 2) สภาวะบรรยากาศการบรรจุ สิ่งที่ต้องพิจารณาหาอัตราส่วนแก๊สผสมที่พอเหมาะที่สุดในการยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร คือ อัตราการหายใจของพืช ส่วนประกอบทางเคมีของอาหารจำพวกเนื้อสัตว์โดยเฉพาะปริมาณไขมันและน้ำ ปฏิกิริยาของไมโอโกลบินในเนื้อกับแก๊สออกซิเจน และคุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับการซึมผ่านของแก๊สออกซิเจน แก๊สไนโตรเจน แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ 3) การปิดผนึกภาชนะบรรจุ 4) วิธีการเก็บรักษา การควบคุมอุณหภูมิ ระดับความชื้น และการไหลเวียนของอากาศภายนอกรอบภาชนะบรรจุ ควรเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ภายใต้อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสม และ 5) วัสดุที่ทำภาชนะบรรจุ เลือกวัสดุที่ป้องกันการซึมผ่านของแก๊สที่เหมาะสม เพื่อรักษาสภาพการปรับบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ไว้ได้ตลอด วัสดุที่นิยมนำมาใช้ทำบรรจุภัณฑ์ คือ ฟิล์มพลาสติก เนื่องจากมีให้เลือกหลายชนิดตามความเหมาะสมของการใช้งาน ฟิล์มพลาสติกที่นิยมใช้กับอาหารพวกเนื้อหมู เป็ด ไก่ ได้แก่ โพลีเอทิลีน/โพลีแอไมด์/โพลีไวนิลิดีนคลอไรด์/โพลีเอทิลีน เมทาไลซ์ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความเหมาะสมและต้นทุน (บรรณาธิการอุตสาหกรรมสาร, 2545a)

Arritt (2004) ทำการเติม *C. botulinum* ลงในชิ้นปลา *Paralichthys dentatus* ก่อนบรรจุในถุงไนลอน จากนั้นปรับบรรยากาศด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 100 และบรรจุแบบสุญญากาศในถุง Ultravac เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ แล้วทำการวิเคราะห์สารพิษที่เกิดจาก *C. botulinum* พบว่า ตรวจพบสารพิษในชิ้นปลาที่บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ ก่อนที่ปลาเกิดการเสื่อมเสีย ($> 10^7$ CFU/g) ในวันที่ 25 ของการเก็บรักษา สำหรับปลาที่บรรจุแบบสุญญากาศตรวจพบสารพิษในชิ้นปลาก่อนที่ปลาเกิดการเสื่อมเสียในวันที่ 20 ของการเก็บรักษา

Masniyom (2004) บรรจุปลากะพงขาวแล่ภายใต้การปรับบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ในสัดส่วนที่สูง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ พบว่า การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแปรผันโดยตรงกับความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ เมื่อใช้แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้มากที่สุด ปลากะพงขาวแล่ที่เก็บรักษาภายใต้การปรับบรรยากาศที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงมีปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด ไตรเมทิลเอมีน แอมโมเนีย และฟอร์มาลดีไฮด์ ต่ำกว่าตัวอย่างที่เก็บภายใต้บรรยากาศปกติ (ชุดควบคุม) เช่นเดียวกับการทดลองของ มนัสวี เจี่ยศิริเจริญวงษ์และคณะ (2546) ศึกษาผลของการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเนื้อสัตว์หรือปลา เช่น เนื้อหรือปลาแดดเดียว ปลารมควัน

โดยการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35°ซ พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 (ปริมาตร/ปริมาตร) สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* NCTC 10538 (K12), *S. aureus* ATCC 25923, *Sal. Typhi* ATCC 13311 แต่ไม่มีผลต่อ *C. perfringens* DMST 15191 และแบคทีเรียที่ผลิตกรด สำหรับการบรรจุผลิตภัณฑ์แบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35°ซ ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของ *C. perfringens*, LAB, *E. coli*, *S. aureus* และ *Sal. Typhi* ดังนั้นการบรรจุแบบสุญญากาศควรใช้ร่วมกับวิธีการถนอมอาหารอย่างอื่น เช่น การลดอุณหภูมิด้วย

Rutherford และคณะ (2007) นำกุ้งแช่แข็งที่ปอกเปลือกและให้ความร้อนแล้วมาละลายน้ำแข็งด้วยการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นผสม *L. monocytogenes* ลงในกุ้งแล้วบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศด้วยแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 และบรรจุแบบสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3, 7 และ 12°ซ เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ปริมาณ *L. monocytogenes* ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น ในชุดกุ้งที่บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3°ซ เป็นระยะเวลา 15 วัน สรุปว่าแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สามารถช่วยชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อ Psychrotrophic bacteria โดยเมื่อนำกุ้งมาทดสอบความชอบพบว่า ได้รับการยอมรับทางด้านกลิ่นรสตลอดการเก็บรักษา จากการศึกษาดังกล่าวพบว่า การควบคุมอุณหภูมิในการเก็บรักษาในระดับครัวเรือนค่อนข้างกระทำได้ยาก ดังนั้นการถนอมอาหารหรือการเติมสาร Antimicrobial ช่วยทำให้มีความปลอดภัยจากการเพิ่มจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์มากยิ่งขึ้น

Thepnuan (2007) เก็บรักษากุ้งขาวและกุ้งกุลาดำภายใต้การดัดแปลงบรรยากาศ (คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80, ออกซิเจนร้อยละ 10 และไนโตรเจนร้อยละ 10) โดยแช่กุ้งในกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร 15 นาที ที่อุณหภูมิ 4°ซ ก่อนนำมาทำการบรรจุในถุง Polyethylene พบว่าสามารถช่วยลดการเสื่อมเสียทางด้านจุลชีววิทยา เคมี และกายภาพของกุ้งทั้งสองชนิดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลา 12 วัน โดยการใช้กรดแอสคอร์บิกมีผลต่อการชะลอการย่อยสลายของโปรตีนกล้ามเนื้อซึ่งเป็นผลมาจากการลดลงของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามกุ้งมีความสามารถในการจับน้ำลดลงและบริเวณรยางค์เปลี่ยนเป็นสีส้ม

Chen และ Xiong (2008) ศึกษาการเก็บรักษา Red claw crayfish *(Cherax quadricarinatus)* ในถุงพลาสติกชนิด Polyvinylchloride ดัดแปลงบรรยากาศ (แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 80, แก๊สออกซิเจนร้อยละ 10 และแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 10) ที่อุณหภูมิ 2°ซ เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่าการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ชอบอากาศและโคลิฟอร์มเพิ่มขึ้นช้ากว่าการบรรจุแบบปกติและแบบสุญญากาศ

Lee และ Baek (2008) ศึกษาปริมาณ *E. coli* O157:H7 ในผักโขมโดยใช้สารเคมีร่วมกับการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ แก๊สไนโตรเจนร้อยละ 100 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 โดยนำผักโขมช่ในสารละลายคลอรีนไดออกไซด์หรือโซเดียมไฮโปคลอไรด์ เข้มข้น 100 ppm เป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นบรรจุผักโขมแบบดัดแปลงบรรยากาศและเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 7°ซ พบว่า ปริมาณ *E. coli* O157:H7 ลดลง 3-4 log cycle นอกจากนี้พบว่า การเก็บรักษาผักโขมด้วยการดัดแปลงบรรยากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนร้อยละ 100 แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 100 ให้ผลทางจุลชีววิทยาไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$)

Mejlholm และคณะ (2008) ได้ทดลองเก็บรักษากุ้งแช่ในน้ำเกลือซึ่งมีส่วนประกอบของสารละลายกรดอินทรีย์ผสม 2 ชุดการทดลอง (เข้มข้นร้อยละ 80) ได้แก่ (1) Benzoic acid, Citric acid และ Sorbic acid (2) Acetic acid, Citric acid และ Lactic acid จากนั้นบรรจุกุ้งในถ้วยพลาสติก อัตราส่วนกุ้งต่อสารละลายน้ำเกลือ 1: 0.7 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2°ซ สำหรับการบรรจุกุ้งแบบดัดแปลงบรรยากาศ (แก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 40 แก๊สไนโตรเจนร้อยละ 60) กุ้งจะผ่านการแช่น้ำเกลือ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 2°ซ และแยกน้ำเกลือออกก่อนบรรจุในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2°ซ พบว่ากุ้งแช่น้ำเกลือที่มีส่วนประกอบของสารละลายกรดอินทรีย์ (1) Benzoic acid, Citric acid และ Sorbic acid อัตราส่วนของกรดอินทรีย์ร้อยละ 0.15: 0.79: 0.05 (w/w) ซึ่งบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถเก็ยรักษาได้นานมากกว่า 75 วัน ขณะที่กุ้งแช่ในน้ำเกลือที่มีสารอินทรีย์ชนิดเดียวกันอัตราส่วนร้อยละ 0.13: 0.66: 0.04 (w/w) ที่บรรจุในถ้วยพลาสติกสามารถเก็บรักษาได้นาน 53-60 วัน ชุดการทดลองกุ้งแช่น้ำเกลือที่มีส่วนประกอบของกรดอินทรีย์ (2) Acetic acid, Citric acid และ Lactic acid อัตราส่วนร้อยละ 1.26: 0.17: 0.97 (w/w) มีการเติม Na-diacetate บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศสามารถเก็บรักษาได้ 56-63 วัน ขณะที่กุ้งแช่น้ำเกลือที่มีสารอินทรีย์ชนิดเดียวกันอัตราส่วนร้อยละ 1.23: 0.19: 1.08 (w/w) ที่บรรจุในถ้วยพลาสติกสามารถเก็บรักษาได้นาน 69-84 วัน จากการทดลองข้างต้นจึงสรุปว่า การเก็บรักษากุ้งแช่น้ำเกลือด้วยการดัดแปลงบรรยากาศมีผลในการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตและสารเคมีที่ใช้ในการผลิต

10. การมาริเนท (Marinating)

Marinated มาจากคำว่า marine ซึ่งมาจากภาษาละติน ส่วนในประเทศอิตาลี สเปน และฝรั่งเศส เรียกว่า soaking/pickling in salt brine (Young and Lyon, 1997) การมาริเนทเป็นเทคนิคในการทำอาหารเพื่อให้เนื้อนุ่ม พัฒนากลิ่นรส และความฉ่ำของเนื้อ (Lemos *et al*., 1999) และยืดอายุการเก็บรักษาสัตว์ปีก อาหารทะเล และผัก (Cadun *et al*., 2005) ในขั้นตอนของการมาริ

เนทมีการใช้สารละลายซึ่งอาจประกอบด้วย น้ำตาล เครื่องเทศ น้ำมัน กรดอินทรีย์ เช่น กรดอะซิติก และเกลือ โดยเกลือเป็นส่วนผสมที่มีความสำคัญมากที่สุดในการมาริเนท ซึ่งมีผลต่อการพัฒนากลิ่นรสและความนุ่มของเนื้อ โซเดียมคลอไรด์จะปรับปรุงคุณสมบัติของเนื้อโดยเพิ่มความสามารถในการละลายของโปรตีนไมโอไฟบริล (Babji *et al.,* 1982) แต่แคลเซียมคลอไรด์จะทำให้กล้ามเนื้อมีสีคล้ำและเพิ่ม aerobic plate count (Wheeler *et al.,* 1993) และเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสีของเนื้ออย่างรวดเร็ว (Kerth *et al.,* 1995) ส่วนโพลีฟอสเฟตมีผลต่อคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์เนื้อ โดยทำให้สีและกลิ่นรสมีความคงตัว เพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ (Lemos *et al*., 1999) และลดค่า TBA ในเนื้อไก่ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิที่เย็นเป็นเวลา 1-3 วัน (Lemos *et al*., 1999) การมาริเนทส่วนใหญ่มีการใช้เกลือร่วมกับฟอสเฟต เพื่อเสริมการทำงานให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความฉ่ำและความนุ่มของเนื้อดียิ่งขึ้น (Jensen *et al.,* 2003) แต่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากมีการอุ้มน้ำไว้ โดยความเข้มข้นที่ใช้ต้องเพียงพอในการพัฒนาความนุ่มและความฉ่ำของเนื้อ แต่ไม่มีผลต่อกลิ่นรส สี และไม่ทำให้เนื้อนุ่มจนเละ (Sheard and Tali, 2004) กรดก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เนื้อมีความนุ่ม โดยกรดเหนี่ยวนำให้เกิดการทำงานของเอนไซม์ cathepsin ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อของสัตว์น้ำ ซึ่งมีผลต่อการละลายโปรตีนไมโอไฟบริลและเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ส่งผลให้เนื้อมีความนุ่ม (Berge *et al*., 2001) ส่วนวัตถุประสงค์ของการเติมน้ำตาล คือ ปรับปรุงรสเปรี้ยวที่เกิดจากการเติมกรดเพื่อให้มีค่าความเป็นกรดด่างอยู่ในช่วงที่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ (Björkroth, 2005)

การมาริเนทเป็นการแปรรูปกึ่งการถนอมอาหาร (semi-preserves) ส่งผลให้อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ยังอยู่ในเวลาที่จำกัดโดยการทำงานของกรดและเกลือพร้อมกัน โดยจะเพิ่ม ionic strength และลดค่าความเป็นกรดด่างของผลิตภัณฑ์ โดยทั่วไปกรด (กรดอะซิติก) และเกลือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการยับยั้งการทำงานของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียรวมทั้งเอนไซม์ที่มีอยู่ในปลา ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นรสและยืดอายุการเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มามีรสชาติที่ได้รับความพอใจ โดยปราศจากความแข็ง (Gökglu *et al.,* 2004) และประเทศในยุโรป มีการใช้กรดซอร์บิกและกรดเบนโซอิกเพื่อที่จะยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์มาริเนท (Cadun *et al.,* 2005)

เทคโนโลยีการมาริเนทในอุตสาหกรรมเนื้อและสัตว์ปีกมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันจึงได้มีการศึกษาการแปรรูปปลามาริเนทมากขึ้นโดยพาะปลาซาร์ดีน เนื่องจากปลาซาร์ดีนมีปริมาณไขมันที่สูงจึงมีความเหมาะสมอย่างมากสำหรับการมาริเนท แต่สำหรับในการมาริเนทกุ้งยังมีการพัฒนาที่น้อยมาก (Cadun *et al.,* 2005)

11. สารประกอบฟอสเฟต

สารประกอบฟอสเฟตที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ออร์โทฟอสเฟต (orthophosphates) ประกอบด้วย ฟอสฟอรัส 1 อะตอม และคอนเดนส์ฟอสเฟต (condensed phosphates) ซึ่งเกิดจากการให้ความร้อนแก่ส่วนผสมของสารประกอบออร์โทฟอสเฟตภายใต้สภาวะที่ควบคุมอุณหภูมิ ทำให้ได้สารประกอบที่มีฟอสฟอรัสตั้งแต่ 2 อะตอมขึ้นไป โดยเชื่อมต่อกันด้วยออกซิเจน สารประกอบฟอสเฟตที่มีฟอสฟอรัส 2 อะตอม เรียกว่า ไพโรฟอสเฟต (pyrophosphate) ส่วนสารประกอบฟอสเฟตที่เรียงต่อเป็นโซ่ยาวมีฟอสฟอรัสตั้งแต่ 3 อะตอมขึ้นไป เรียกว่า โพลีฟอสเฟต (polyphosphate) สำหรับฟอสเฟตที่โมเลกุลเชื่อมต่อกันเป็นวงจะเรียกว่า เมตาฟอสเฟต (metaphosphate) (Dziezak, 1990)

สารประกอบฟอสเฟตมีบทบาทและคุณสมบัติที่สำคัญหลายประการและสามารถใช้ในอาหารเพื่อทำหน้าที่ที่แตกต่างกัน เช่น คุณสมบัติในการเป็นบัฟเฟอร์ (Buffering capacity) โดยสารประกอบฟอสเฟตที่ทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ได้ดี คือ ออร์โทฟอสเฟตและไพโรฟอสเฟต ส่วนโพลีฟอสเฟตนั้นยิ่งมีขนาดโมเลกุลยาวมากขึ้นคุณสมบัติการเป็นบัฟเฟอร์ก็จะลดลง นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการสามารถจับกับไอออนบวกของโลหะชนิดต่างๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดง และเหล็ก ซึ่งโลหะเหล่านี้สามารถเร่งปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ทำให้เกิดปฏิกิริยากับองค์ประกอบของอาหาร เช่น การเกิดออกซิเดชัน (Dziezak, 1990) และฟอสเฟตยังมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์โดยจับโลหะที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ (Elliott *et al.,* 1964)

บทบาทของสารประกอบฟอสเฟตที่มีต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เนื้อ

การเพิ่มความนุ่ม โดยเป็นตัวทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อมีค่าเพิ่มขึ้นและช่วยให้โปรตีนของกล้ามเนื้อคลายตัว เนื่องจากเกิดการแตกตัวของแอคโคไมโอซินเป็นไมโอซินและแอคติน (Nauss *et al.,* 1969)

การเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำ โดยทำให้เส้นใยโปรตีนเกิดการยืดตัวล้อมรอบโมเลกุลน้ำ (Dziezak, 1990) โดย alkaline phosphate เช่น เตตระโซเดียมไพโรฟอสเฟต โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต มีความเหมาะสมในการใช้ปรับปรุงความสามารถในการอุ้มน้ำของเนื้อสัตว์ เพราะ acid phosphate เช่น โซเดียมแอสิดไพโรฟอสเฟต จะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างของเนื้อลดลงและทำให้เนื้อเกิดการหดตัว (Hourant, 2004)

เพิ่มรสชาติอาหาร โดยการทำให้โมเลกุลของเนื้อสานกันเป็นตาข่าย สามารถกั้นไม่ให้ของเหลวในเนื้อไหลออกมา ซึ่งทำให้เนื้อมีความฉ่ำ (Hourant, 2004)

12. การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องต้มข่า

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์เครื่องต้มข่า อาจมาจากหลายสาเหตุร่วมกัน ได้แก่

12.1 วัตถุดิบ

เครื่องเทศและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์และรา (Alemela *et al*., 2002) โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่สร้างสปอร์ และเชื้อรา บางครั้งอาจมีพวกโคลิฟอร์มและแบคทีเรียแกรมลบด้วย โดยจุลินทรีย์ดังกล่าวมีแหล่งกำเนิดจากดิน พืชและสัตว์

ชนิดและปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในเครื่องเทศ ขึ้นอยู่กับชนิดของเครื่องเทศ ภูมิภาค สภาวะการปลูก ฤดูการเก็บเกี่ยว การเก็บเกี่ยว การจัดการหลังการเก็บเกี่ยว วิธีการขนส่ง กระบวนการแปรรูป บรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาและสภาพแวดล้อม (Alemela *et al*., 2002) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องเทศ การเป็นสารต้านจุลินทรีย์ของเครื่องเทศ และองค์ประกอบของอาหาร (Bhat *et al*., 1987 อ้างโดย McKee, 1995)

Siripongvutikorn และคณะ (2005) พบว่าตะไคร้และเหง้าข่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางสูง โดยมีค่าอยู่ในช่วง 10^4-10^7 และ 10^4-10^6 โคโลนีต่อกรัม (cfu/g) ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการสัมผัสกับวัสดุปลูกโดยตรง นอกจากนี้ตะไคร้ยังมีลักษณะของซอกกาบใบซึ่งยากแก่การทำความสะอาด (นุชรี ชาติวังสากุล, 2552) ส่วนใบมะกรูดและพริกขี้หนูมีปริมาณจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง อยู่ในช่วง 10^4-10^5 และ 10^3-10^4 โคโลนีต่อกรัม ตามลำดับ

ชนิดของจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในเครื่องเทศ

1. Coliform bacteria เป็นเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Enteroloacteriaceae ย้อมติดสีแกรมลบ เป็นเซลล์รูปแท่ง ท่อนสั้นๆ สามารถเคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา (flagella) รอบเซลล์ เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ (facultative anaerobe) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 35-37^{o}ซ สามารถผลิตกรดอินทรีย์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และก๊าซไฮโดรเจนได้ โดยการย่อยสลายกลูโคส (สุวิมล กีรติพิบูล, 2546) ถ้าผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีการปนเปื้อนของเชื้อนี้ ทำให้เกิดอาการของโรคอุจจาระร่วง (diarrhea) คือ ถ่ายเป็นน้ำหรือถ่ายเหลวบ่อยครั้ง และมักพบอาการเป็นไข้และอาเจียนร่วมด้วย

2. *Bacillus cereus* เป็นเชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Bacillaceae มีรูปร่างแท่ง ติดสีแกรมบวก มีการเรียงตัวเป็นสายยาว ขนาดความกว้างของเซลล์มากกว่าหรือเท่ากับ 0.9

ไมโครเมตร มีสปอร์ที่ทนความร้อนสูง เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่ที่มีอากาศ (aerobe) หรือแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้ คือ ไม่เกิน 75°ซ และอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญเติบโตได้ คือ 3°ซ สามารถทนเกลือที่มีความเข้มข้นร้อยละ 12 พบทั่วไปในธรรมชาติ คือ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ธัญพืช ข้าวและจากเครื่องปรุงแต่งหรือส่วนผสมของอาหาร เป็นต้น มักเป็นสาเหตุของการเน่าเสียในอาหารจำพวกที่มีแป้งและโปรตีนเป็นส่วนประกอบ บางครั้งอาจพบในซอสและซุปต่างๆ เชื้อชนิดนี้สามารถสร้างสารพิษภายในเซลล์ (enterotoxin) ได้ 2 ชนิด ชนิดหนึ่งทนต่อความร้อน (heat stable) เป็นสาเหตุให้เกิดอาการอาเจียน ส่วนอีกชนิดถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน (heat labile) เป็นสาเหตุทำให้เกิดอาการอุจจาระร่วง

Antai (1988 อ้างโดย McKee, 1995) พบการปนเปื้อนของ *B. cereus*, *B. polymyxa*, *B. subtilis* และ *B. coagulans* ในเครื่องเทศในไนจีเรีย (Nigeria) ได้แก่ พริกหยวก (red pepper) พริกไทย (black pepper) ไธม์ (thyme) และผงเครื่องแกง (curry powder)

การป้องกัน *B. cereus* เป็นปัญหากับอุตสาหกรรมการจัดบริการอาหาร ซึ่งมีการเตรียมอาหารขึ้นเป็นจำนวนมากและเตรียมล่วงหน้าเป็นเวลานาน อีกทั้งมีการเก็บรักษาที่ไม่ถูกสุขลักษณะ จากนั้นอาจนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาไม่ถูกต้อง *B. cereus* พบได้ในอาหารหลายชนิด สปอร์ของเชื้อทนต่ออุณหภูมิที่ทำให้อาหารสุก ดังนั้น ขั้นตอนการจัดเตรียม การเก็บรักษา การขนส่งอาหาร จึงต้องกระทำอย่างระมัดระวัง (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2537)

3. *Clostridium* spp. เป็นเชื้อรูปท่อน ติดสีแกรมบวก เมื่ออายุมากขึ้นจะติดสีแกรมลบ สร้างสปอร์ได้ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ เป็นเชื้อที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต แม้บางสายพันธุ์จะทนออกซิเจนได้ มักพบปนเปื้อนในรูปสปอร์ *Clostridium perfringens* (welchii) ทำให้เกิดการติดเชื้อที่แผลและเกิด gas gangrene ในขณะที่ *C. tetani* ทำให้เกิด tetanus และ *C. botulinum* ทำให้เกิด botulism food poisoning

มีการตรวจพบการปนเปื้อนของ *C. perfringens* ในเครื่องเทศ ได้แก่ ขิง (Boer *et al*., 1985 อ้างโดย McKee, 1995) พริกไทย (Dacarro *et al*., 1994 อ้างโดย McKee, 1995) เครื่องเทศใน Netherlands (Boer and Boot, 1983 อ้างโดย McKee, 1995) และเครื่องเทศในอินเดีย (Banerjee and Sarkar, 2003)

4. *Staphylococcus aureus* เป็นแบคทีเรียรูปกลม มีขนาดเล็กประมาณ 0.5-1 ไมโครเมตร มีการจัดเรียงเซลล์แบบเดี่ยวๆ เป็นคู่หรือเป็นกลุ่มไม่แน่นอน บางครั้งมีการจัดเรียงคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีโคโลนีสีเหลือง เหลืองทอง ส้มและขาว อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คือ 35°ซ ส่วนอุณหภูมิที่เชื้อเจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4°ซ จนถึง

60°ซ พีเอชที่เหมาะสม คือ 7.0-7.5 พีเอชที่เชื้อเจริญเติบโตได้อยู่ระหว่าง 4.2-9.3 เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ในที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ร้อยละ 15 เชื้อสามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีกลูโคส เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในที่มีหรือไม่มีอากาศ เจริญเติบโตในสภาวะที่มีออกซิเจนได้ดีกว่าสภาวะไร้ออกซิเจน *S. aureus* ที่ผลิตสารพิษส่วนใหญ่มักเป็นพวกที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์โคแอกูเลส (coagulase) ได้

S. aureus เป็นเชื้อที่พบได้ตามส่วนต่างๆของร่างกายมนุษย์ เช่น จมูก มือ แผลเรื้อรัง ผิวหนัง รวมทั้งบนเสื้อผ้า อากาศและฝุ่นละออง การปนเปื้อนของเชื้อนี้ในอาหาร มาจากการไอ หรือจามลงในอาหาร หรือการได้รับเชื้อจากผิวหนัง หรือได้รับเชื้อภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ อาหารที่ไม่ผ่านการหุงต้มหรืออาหารสุกๆดิบๆ Christensen (1967 อ้างโดย McKee, 1995) พบการปนเปื้อนของ *S. aureus* ในพริกไทยและพริกหยวก

เมื่อเชื้อ *S. aureus* ปนเปื้อนในอาหารและมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเติบโต รวมทั้งมีระยะเวลานานเพียงพอต่อการเติบโต และสร้างสารพิษภายในเซลล์ แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ลงสู่อาหาร ชนิดของสารพิษที่สร้างมี 5 ชนิด คือ เอ บี ซี ดี และอี ซึ่งมีคุณสมบัติทนความร้อนในระดับอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ คือ 72 °ซ เป็นเวลา 15 นาที และยังทนความร้อนระดับ 143.3 °ซ เป็นเวลา 9 วินาที สารพิษชนิดนี้ไม่ทำให้รูปสัมผัสของอาหารมีการเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคจึงไม่สามารถทราบได้ว่ามีสารพิษเกิดขึ้นในอาหาร เมื่อรับประทานอาหารที่มีสารพิษเข้าไปเป็นเวลาประมาณ 1-6 ชั่วโมง จะมีอาการอาหารเป็นพิษ ทำให้เกิดอาการคลื่นไส้ อาเจียน ปวดท้อง และท้องเดิน อาการป่วยจะดีขึ้นภายในเวลา 8-24 ชั่วโมง

5. ยีสต์และรา เครื่องเทศที่มีความชื้นสูงมีการเจริญของเชื้อราที่สร้างสารพิษ (toxigenic molds) ได้แก่ *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp. และ *Fusarium* spp.

Banerjee และ Sarkar (2003) พบว่าเครื่องเทศของอินเดียทั้งหมด 154 ชนิด พบการปนเปื้อนของเชื้อราร้อยละ 97 (พบเชื้อราในเครื่องเทศ 150 ชนิดจาก 154 ชนิด) โดยพบการปนเปื้อนของเชื้อราสูงในพริกป่น

การลดปัญหาจุลินทรีย์ปนเปื้อนจากวัตถุดิบที่ใช้ ควรเลือกใช้วัตถุดิบที่สะอาด มีการตรวจสอบจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในวัตถุดิบที่ใช้ และมีการทำลายหรือกำจัดจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนตามความเหมาะสม

12.2 สภาพแวดล้อมของการผลิตและเครื่องมือ

จุลินทรีย์ที่มักพบในระหว่างการผลิตและบรรจุ มักเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งอยู่ตามจุดที่ทำความสะอาดยาก เช่น ข้อต่อต่างๆ ซึ่งอาจมีส่วนผสมต่างๆในผลิตภัณฑ์ไปสะสมอยู่

เชื้อที่ปนเปื้อนตามพื้นและผนังมักเป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งหรือรูปกลม และสปอร์ของรา สำหรับเชื้อแกรมลบจะทนทานต่อสภาพพื้นผิวแห้งได้น้อยกว่า แต่อาจคงอยู่ได้ในช่วงระยะเวลาหนึ่ง

การปนเปื้อนจากอากาศ มักเกี่ยวข้องกับฝุ่นผง และสะเก็ดผิวหนังที่หลุดออกมา เชื้อที่พบส่วนใหญ่จะเป็นรา สปอร์ของแบคทีเรียและแบคทีเรียรูปร่างกลมที่พบตามผิวหนัง (skin cocci)

12.3 บุคลากร

การปนเปื้อนจากผู้ปฏิบัติงานเป็นสิ่งที่ต้องระวังที่สุด ในสภาพการเคลื่อนไหวปกติจะมีส่วนของผิวหนังหลุดออกมา 10^4 เซลล์ต่อนาที (Schiller *et al*., 1968 อ้างโดย จันทนา เวสพันธ์, 2552) จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม micrococci ที่ไม่ทำให้เกิดโรค บางครั้งอาจเจอ *S. aureus* ด้วย ถ้าสุขอนามัยไม่ดี อาจพบเชื้ออื่น เช่น *E.coli* และ *Salmonella* spp.

12.4 กระบวนการผลิตที่ใช้

ขั้นตอนต่างๆในการผลิต ควรมีโอกาสปนเปื้อนจากจุลินทรีย์น้อยที่สุด กระบวนการทำลายเชื้อควรเหมาะสม และควรมีการประเมินกระบวนการผลิตที่ใช้ตั้งแต่ต้นจนจบ

12.5 ภาชนะบรรจุ

ภาชนะบรรจุและฝาปิดต้องสะอาด และควรเลือกใช้ภาชนะให้เหมาะสม

13. การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร (Food deterioration/ spoilage)

การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร หมายถึง การที่อาหารมีการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพ ทำให้ลักษณะของอาหาร เช่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น รส สีและคุณค่าทางอาหารเปลี่ยนไป การเน่าเสียของอาหาร อาจเกิดจากจุลินทรีย์หรือเอนไซม์ไปทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพและมีลักษณะที่ไม่ต้องการ เป็นผลทำให้เกิดการสูญเสียทางเศรษฐกิจและอาจทำให้ไม่ปลอดภัยในการบริโภค

13.1 สาเหตุการเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร

การการเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหาร เกิดขึ้นจากการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและกายภาพของอาหาร ซึ่งอาจทำให้อาหารนั้นเป็นพิษหรือบริโภคไม่ได้ และอาหารมีลักษณะทางด้านกลิ่นรสและลักษณะเนื้อสัมผัสเปลี่ยนไป

สาเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย แยกออกเป็น 2 อย่าง (ดรุณี ธนะนันท์กูล, 2543; บุษกร อุตรภิชาติ, 2545) คือ

13.1.1 การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายใน (endogeneous food spoilage) เป็นการเน่าเสียที่เกิดขึ้นเนื่องจากเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหาร เช่น ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงของอาหารเป็นสีน้ำตาล (browning reaction) โดยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส การเหม็นหืนของอาหารพวกไขมันโดยเอนไซม์ไลพอกซีจีเนส เป็นต้น

13.1.2 การเสื่อมเสีย/เน่าเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากปัจจัยภายนอก (exogenous food spoilage) ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

13.1.2.1 สาเหตุทางเคมี อาหารทุกชนิดประกอบขึ้นจากส่วนประกอบทางเคมีของธาตุและสารประกอบ เมื่อพืช ผัก ผลไม้ ถูกเก็บเกี่ยวก็ย่อมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ปฏิกิริยาทางเคมีที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น ปฏิกิริยาการเติมออกซิเจนในไขมันที่มีน้ำอยู่ด้วย ทำให้ไขมันเหม็นหืน ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

13.1.2.2 สาเหตุทางกายภาพ การเน่าเสียของผัก ผลไม้และอาหารอื่นๆ เริ่มต้นตั้งแต่การเก็บเกี่ยวจนถึงผู้บริโภค การเก็บเกี่ยว การบรรจุ การขนย้ายที่ไม่ถูกวิธี ระยะเวลาของการเก็บรักษา รวมถึงสภาพแวดล้อมของการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม สิ่งต่างๆเหล่านี้มีผลทำให้ผักและผลไม้เกิดรอยช้ำ ทำให้อาหารเสื่อมเสียและคุณภาพของอาหารด้อยลงด้วย

13.1.2.3 สาเหตุที่เกิดจากจุลินทรีย์ เนื่องจากอาหารแต่ละชนิดมีองค์ประกอบที่ไม่เหมือนกัน และจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีการผลิตเอนไซม์แตกต่างกัน ฉะนั้นการเน่าเสียของอาหารจึงเกิดจากจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน ส่วนใหญ่แล้วการเน่าเสียของอาหารมักเกิดจากเชื้อแบคทีเรียซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้กว้างขวางในธรรมชาติรวมทั้งในอาหาร แบคทีเรียมักทำให้อาหารสด เช่น นมสด ไข่ อาหารทะเล เกิดการเน่าเสีย การเน่าเสียของอาหารนั้นเกิดจากการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ปนเปื้อนในอาหาร การที่แบคทีเรียเจริญเติบโตในอาหารได้หรือไม่นั้นขึ้นกับปัจจัยภายในอาหารเอง เช่น สารอาหาร พีเอช ความชื้น ปริมาณออกซิเจนและโครงสร้างทางชีววิทยาของอาหารหรือสารยับยั้งในอาหาร เป็นต้น นอกจากนั้นยังขึ้นกับปัจจัยภายนอก เช่น อุณหภูมิที่เก็บอาหาร ความชื้นสัมพัทธ์และปริมาณก๊าซ เป็นต้น (คณาจารย์ภาควิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร, 2539) จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในอาหารที่มีความชื้นพอเหมาะ สารอาหารครบถ้วน ในสภาพที่มีอุณหภูมิและออกซิเจนเหมาะสม โดยในระหว่างการเจริญเติบโตนั้นจุลินทรีย์จะสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายอาหาร ซึ่งอาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วปล่อยออกนอกเซลล์ (extracellular enzymes) หรืออาจเป็นเอนไซม์ชนิดที่สร้างภายในเซลล์แล้วเก็บภายในเซลล์ (intracellular enzymes) โดยจะปล่อยออกนอกเซลล์เมื่อเซลล์แตก (cell lysis) ผลจากการย่อยสลายอาหารทำให้จุลินทรีย์เติบโตเพิ่มจำนวนในอาหารพร้อมๆกับมีการปลดปล่อยสารบางชนิดออกมา ซึ่งสารที่ขับออกมานั้นบางชนิดมีประโยชน์ต่อมนุษย์ เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร

หมัก ส่วนสารบางชนิดที่จุลินทรีย์ขับออกมาภายหลังการเติบโตแล้วทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น การทำให้เกิดเมือกในอาหาร โดยเชื้อ *B. subtilis* ทำให้ขนมปังเน่าเสียโดยมีเมือกเกิดขึ้น การเน่าเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์มีหลายลักษณะ เช่น การเปลี่ยนแปลงของสี กลิ่นรส และเนื้อสัมผัส มีการสร้างเมือก มีก๊าซสะสม ทำให้อาหารมีฟองหรืออาหารมีความขุ่นมากขึ้น เป็นต้น โดยชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ได้แก่

13.1.2.3.1เชื้อรา สามารถเจริญได้ในอาหารทุกชนิดที่ประกอบขึ้นจากสารเคมีจำพวกคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจน อาหารส่วนใหญ่ถ้าพบว่ามีเชื้อราเจริญอยู่จะทำให้อาหารนั้นไม่เป็นที่พึงประสงค์ของผู้บริโภค

13.1.2.3.2 ยีสต์ เจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบ ทำให้เกิดกระบวนการหมัก

13.1.2.3.3 แบคทีเรีย มีหลายชนิดเจริญได้ทั้งในอากาศ ดิน น้ำและอาหารทุกประเภท แบคทีเรียบางชนิดเมื่อเจริญบนอาหาร ทำให้เกิดการสลายตัวของอาหาร ได้สารที่มีพิษต่อมนุษย์ แบคทีเรียส่วนใหญ่ไม่เจริญในสภาพของอาหารที่มีความเป็นกรดสูง แต่ในสภาพที่เหมาะสมแบคทีเรียจะเจริญได้อย่างรวดเร็ว ซึ่งแบคทีเรียแต่ละชนิดมีสภาพที่เหมาะสมแตกต่างกัน เช่น บางชนิดเจริญในที่ซึ่งไม่มีออกซิเจน บางชนิดต้องการออกซิเจน เป็นต้น

14. Hurdle technology (วิไล รังสาดทอง, 2543)

คือ อุปสรรคหรือปัจจัยที่ใช้ในการป้องกันหรือยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ รวมทั้งการเกิดปฏิกิริยาที่ทำให้อาหารเกิดการเสื่อมเสียซึ่งอาจเป็นปฏิกิริยาทางเคมีหรือชีวเคมี ปัจจัยดังกล่าว ได้แก่

- อุณหภูมิ (สูงหรือต่ำ)
- พีเอช
- a_w
- สารเคมี (เกลือ น้ำตาลหรือสารเคมีอื่นๆ)
- ปริมาณออกซิเจนหรือรีดอกซ์โพเทนเชียล (redox potencial)
- การบรรจุ (บรรจุในพลาสติก แก้วหรือกระป๋อง)
- การดัดแปลงบรรยากาศ (modified atmosphere) เช่น การเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์หรือก๊าซอื่นๆ

15. การใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษาอาหาร (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)

อุณหภูมิต่ำมีผลไปลดปฏิกิริยาทางเคมีและการทำงานของเอนไซม์ จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารออกไป

การเก็บรักษาแบบแช่เย็น

การแช่เย็นเป็นการเก็บอาหารที่อุณหภูมิเหนือจุดเยือกแข็ง โดยทั่วไปนิยมเก็บอาหารหลายชนิดไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 0 ถึง 5 ^{0}ซ ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะกับการเจริญของแบคทีเรียประเภทที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง แต่เหมาะกับแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิต่ำ หรือแบคทีเรียที่ปรับตัวเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrotrophs) ดังนั้น การแช่เย็นจึงเป็นเทคนิคหนึ่งในการถนอมอาหารที่สามารถป้องกันความเสี่ยงจากโรคอาหารเป็นพิษได้ในระดับหนึ่ง จากแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ไม่ให้เพิ่มจำนวนขึ้นจนก่อให้เกิดอันตรายแก่ผู้บริโภค แต่การแช่เย็นอาหารไม่สามารถประกันได้ว่าอาหารนั้นจะปลอดภัยจากแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เพราะการแช่เย็นไม่สามารถฆ่าเชื้อแบคทีเรียได้

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มข่า จากตำรับอาหารและอินเตอร์เน็ต ที่มีการยอมรับทางประสาทสัมผัสสูง
2. ศึกษาสภาวะของการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า
3. ศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า
4. ศึกษาผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า
5. พัฒนาสูตรเครื่องต้มข่าให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ $4 \pm 2\ ^{o}$ซ และอุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2\ ^{o}$ซ)
7. การประยุกต์ใช้เครื่องต้มข่าในกุ้งขาว
8. ศึกษาผลของเทคนิคการบรรจุต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า