บทที่ 2

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการวิจัย

วัสดุ

1. วัตถุดิบ

1.1 ข่าอ่อน (*Alpinia galanga* Swart.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 8-10 เดือน โดยเหง้ามีสีขาว ยอดหน่อมีสีแดง เมื่อผ่าแล้วไม่มีเสี้ยน

1.2 ตะไคร้ (*Cymbopogon citratus* Stapf.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 5-6 เดือน ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางลำต้นไม่ต่ำกว่า 1.2-1.5 เซนติเมตร วัดจากส่วนที่ใหญ่ที่สุดของลำต้น

1.3 พริกขี้หนูแดง (*Capsicum frutescens* Linn.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดพัทลุง อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 60-75 วัน โดยมีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 10R5/12

1.4 ใบมะกรูด (*Citrus hystrix* DC4.) จัดซื้อจากชาวสวนจังหวัดสงขลา อายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 33-40 วัน ภายหลังการตัดแต่งกิ่ง โดยมีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 7.5GY4/4

1.5 ส้มแขกแห้ง (*Garcinia atroviridis* Griff. Ex T. Anderson) จัดซื้อจากผู้ผลิตส้มแขกแห้งจากจังหวัดสงขลา ทำการเก็บรักษาในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง (27-30°ซ) ไม่เกิน 2 สัปดาห์

2. วิธีการเตรียมวัตถุดิบ

2.1 ข่าอ่อน นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตัดแต่งส่วนที่มีแผลและส่วนของลำต้นที่อยู่เหนือพื้นดินออก วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2^{\circ}$ซ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด นำมาหั่นให้เป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ขนาด $0.5 \times 0.5 \times 0.5$ ลูกบาศก์มิลลิเมตร นำข่าอ่อนที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 70 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ข่าบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช (mesh)

2.2 ตะไคร้ ตัดส่วนโคนของลำต้นที่ติดกับรากประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้วลอกกาบใบส่วนนอก 1-2 กาบใบออก นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2^{\circ}$ซ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด หั่นตามแนวขวางของลำต้นให้มีความหนาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร นำตะไคร้ที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 60 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ตะไคร้บดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

2.3 พริกขี้หนู คัดเลือกพริกขี้หนูที่เน่าเสียทิ้งและเด็ดขั้วพริกออก แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2^{\circ}$ซ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด

หั่นให้มีความหนาประมาณ 1.0 มิลลิเมตร นำพริกขี้หนูที่ผ่านการหั่นแล้ว 80 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้พริกขี้หนูบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

2.4 ใบมะกรูด นำใบมะกรูดออกจากกิ่ง คัดเลือกใบมะกรูดที่อ่อนและมีตำหนิออกไป โดยใบมะกรูดที่ต้องการคือใบมะกรูดที่มีค่าสีในระบบ Munsell เท่ากับ 7.5GY4/4 นำใบมะกรูดที่ผ่านการคัดเลือก มาล้างด้วยน้ำสะอาด วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2°ซ) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซับด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด แยกก้านใบออกจากใบ นำใบมะกรูดที่แยกก้านใบออกมาหั่นตามแนวขวางของใบหนาประมาณ 0.5 มิลลิเมตร นำใบมะกรูดที่ผ่านการหั่นแล้วปริมาณ 35 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้ใบมะกรูดบดที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

2.5 เครื่องต้มข่า นำข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด ในข้อ 2.1-2.4 ที่ผ่านการหั่นเป็นชิ้นๆ แล้ว มาชั่งน้ำหนักให้ได้ตามสัดส่วนในสูตรของเครื่องต้มข่า แล้วนำมาผสมกัน นำเครื่องต้มข่าที่ผ่านการผสมแล้ว 70 กรัม ปั่นด้วยเครื่องปั่นกำลังไฟ 380 วัตต์ เป็นเวลา 2 นาที เพื่อให้ได้เครื่องต้มข่าที่มีขนาดอยู่ในช่วง 9-20 เมช

2.6 ส้มแขกแห้ง นำมาล้างด้วยน้ำสะอาด ตั้งทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2°ซ) นำไปตากแดดเป็นเวลา 3 ชั่งโมง แล้วนำมาเก็บรักษาในภาชนะปิดสนิทที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2°ซ) ไม่เกิน 2 สัปดาห์

3. เครื่องปรุง

- น้ำตาลทรายขาวตรามิตรผล บริษัท น้ำตาลมิตรผล จำกัด
- เกลือป่นตราปรุงทิพย์ บริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด
- วัตถุปรุงแต่งรสอาหาร ตรารสดี รสไก่ บริษัท อายิโนะโมะโต๊ะ (Ajinomoto, Co., Ltd.)
- น้ำกะทิตราชาวเกาะ บริษัท อำพลฟูดส์ โพรเซสซิ่ง จำกัด

4. บรรจุภัณฑ์

ถุงโพลีเอทิลีน (LDPE) หนา 0.083 ± 0.005 มิลลิเมตร มีการซึมผ่านของออกซิเจน (oxygen transmission rate) ที่อุณหภูมิ 23°ซ ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 เท่ากับ 120 มิลลิลิตรต่อตารางเมตรต่อ 24 ชั่วโมง (Fellows, 2000)

ถุงโพลีเอทิลีน (Nylon/LLDPE) ขนาด 26 × 29 เซนติเมตร ที่มีความหนา 0.093±0.002 มิลลิเมตร

5. กุ้งขาวแวนนาไมสด

ขนาด 60-70 ตัวต่อกิโลกรัม โดยรับซื้อจากตลาดคลองเรียนซึ่งนำมาจากฟาร์มเพาะเลี้ยงในจังหวัดสงขลา ที่มีอายุการเก็บรักษาในน้ำแข็งไม่เกิน 24 ชั่วโมง และนำส่งคณะอุตสาหกรรมเกษตรภายใน 1 ชั่วโมง

6. ฟอสเฟต

โซเดียมโพลีฟอสเฟต ได้รับความอนุเคราะห์จากบจก. อดิตยา เบอร์ล่า เคมีคัลส์ (ประเทศไทย)

7. สารเคมีและอุปกรณ์

สารเคมีและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ระบุใน Table 8 และ 9 ตามลำดับ

Table 8. Chemical assay, reagent and company

Chemicals	Company
1. Chemicals used for determination of total phenolic contents and antioxidant activity	
95% Ethanol	SV Medico, Thailand
Absolute Ethanol (99.99%)	Merck KGaA, Germany
Folin-Ciocalteu reagent	Merck KGaA, Germany
Sodium carbonate (Na_2CO_3)	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
Gallic acid	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Spain
2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
2,2-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt (ABTS)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
Potassium persulfate	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Switzerland
Ferric chloride hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	BDH, VWR international Ltd., England
Hydrochloric acid (37%)	Merck KGaA, Thailand
Sodium acetate	Carlo, Erba reagent, Italy
Acetic acid (99.7%)	LAB-SCAN
6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane -2-carboxylic acid (Trolox)	Fluka, Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany
2. Chemicals used for determination of microbial activity	
Peptone	Merck KGaA, Germany
Plate Count Agar (PCA)	Merck KGaA, Germany
Lauryl Sulphate Tryptone (LST) Broth	Merck KGaA, Germany
EC Broth	Merck KGaA, Germany
Baird Parker agar (BP)	Merck KGaA, Germany
Potato Dextrose Agar (PDA)	Difco, Detroit, Michigan, USA
Potassium tellurite	Merck KGaA, Germany

Table 8. Chemical assay, reagent and company (continued)

Chemicals	Company
2. Chemicals used for determination of microbial activity	
Tartaric acid	Ajax Finechem, Adivision of Nuplex Industries (Aust) Pty Ltd, New Zealand
SFP agar	Difco, Detroit, Michigan, USA
Manitol Egg Yolk Polymyxin agar (MYP)	Difco, Detroit, Michigan, USA
Lactobacilli MRS agar (MRS)	Difco, Detroit, Michigan, USA
3. Chemicals used for determination effect of pH on total phenolic and antioxidants activity	
Citric acid	Merck KGaA, Germany
Sodium dihydrogen phosphate	Merck KGaA, Germany
Disodium hydrogen orthophosphate	Merck KGaA, Germany
4. Chemicals used for determination of fiber content	
H_2SO_4	Merck KGaA, Germany
NaOH	Merck KGaA, Germany
Absolute ethanol	Merck KGaA, Germany
5. Chemicals used for determination of Microstructure (Scanning Electron Microscopy; SEM)	
2.5% (w/v) Glutaraldehyde	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia
di-Sodium Hydrogen orthophosphate	RANKEM, RFCL Limited, India
Sodium dihydrogen phosphate Monohydrate	RANKEM, RFCL Limited, India
50%, 70%, 80%, 90% and 100% (w/v) Ethanol	Lab-scan Ltd, Ireland
6. Chemicals used for determination of TVB-N value and TMA-N Value	
Bromocresol green	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia
Methyl red	QReC, New Zealand
Ethanol	Lab-scan Ltd, Ireland
Boric acid	QReC, New Zealand
0.02 N HCl	Merck KGaA, Germany
K_2CO_3	Ajax Finechem, Pty Ltd, Australia

Table 8. Chemical assay, reagent and company (continued)

Chemicals	Company
6. Chemicals used for determination of TVB-N value and TMA-N Value	
4% (w/v) Trichloroacetic acid	Carlo Erba Reagents, Italy
10% (w/v) Formaldehyde	Lab-scan Ltd, Ireland
7. Chemicals used for determination of Thiobarbituric acid value	
4 N HCL	Merck KGaA, Germany
Antifoam liquid	Fisher Scientific, UK Limited
Thiobarbituric acid reagent	
- 0.2883 g TBA	Sigma-Aldrich, Germany
- 90% glacial acetic acid	Lab-scan Ltd, Ireland

Table 9. Instruments used in the experiment

Instruments	Model	Company/Country
Balance	BS2100s	Sartorius, Germany
Blender	TYPE 276	Moulinex, France
Homogenizer	D-500	WIGGEN hauser, Germany
Vacuum aspirator	A-3S	Tokyo rikakikai, Japan
Rotary evaporator		Buchi rotavapor, Switzerland
Fiber analysis device		Labconco, USA
pH meter	SevenGo SG2	Mettler Toledo, Switzerland
Oil bath	CH-9230 Flawil	Buchi labortechnik, Switzerland
Spectrophotometer	UV-16001	Shimadzu, Kyoto, Japan
Microplate reader	Power wave X	Biotek, USA
Water bath	W350	Memmert, Germany
Colorimeter	Color Flex	HunterLab Reston, USA
Texture Profile Analyzer	TA-XT2i	Texture Analyzer, England
Hot air oven		Memmert, Germany
Autoclave	SS325	Tomy seiko Co., Ltd, Japan
Incubator		Memmert, Germany
SEM	JSM-5800	JEOL, Japan

วิธีการวิจัย

1. คัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มข่า

1.1 สำรวจสูตรของเครื่องต้มข่าจากหนังสือตำรับอาหารและสูตรที่ปรากฏอยู่ในอินเตอร์เน็ต และคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุด จำนวน 5 สูตร (Table 10)

Table 10. Selected Tom-kha paste formulations used in this experiment

Components	Formulation				
	1[a]	2[b]	3[c]	4[d]	5[e]
Galangal (%)	33.33	41.67	41.84	62.5	76.92
Lemon grass (%)	44.44	41.67	47.42	20.83	15.38
Chili (%)	4.44	10.41	8.25	6.25	2.31
Kaffir lime leaves (%)	1.33	6.25	2.51	10.42	5.38
Root of coriander (%)	16.44	-	-	-	-

ที่มา: [a] ดัดแปลงจาก Thai food to world (2007)

[b] ดัดแปลงจาก เคล็ดลับสุขภาพ (2007)

[c] ดัดแปลงจาก Gourmettha cuisine (2007)

[d] ดัดแปลงจาก วิไลลักษณ์ อิสระมวดลพันธ์ (2549)

[e] ดัดแปลงจาก พงศักดิ์ ทรงพระนาม (2547)

1.2 นำเครื่องเทศจากสูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.1 มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่า ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบหน้า 64-65

1.3 นำเครื่องต้มข่าที่ได้ ไปปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 นำน้ำซุปที่ได้ไปวิเคราะห์ค่าทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L*, a*, b* และพีเอช และทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส ในด้านลักษณะปรากฏ สีความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวม โดยวิธี 9-point hedonic scale (ภาคผนวก จ1) ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) กับผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน เพื่อคัดเลือกสูตรเครื่องต้มข่า ที่มีผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบสูงสุด และปรับปรุงสูตรในการปรุง โดยการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธี just about right ด้านกลิ่นเครื่องเทศ ความหวาน ความเปรี้ยวและความเค็ม (ภาคผนวก จ2) และทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-

point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) เพื่อคัดเลือกสูตรการปรุงที่มีผู้ทดสอบชิมชอบสูงสุด โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน

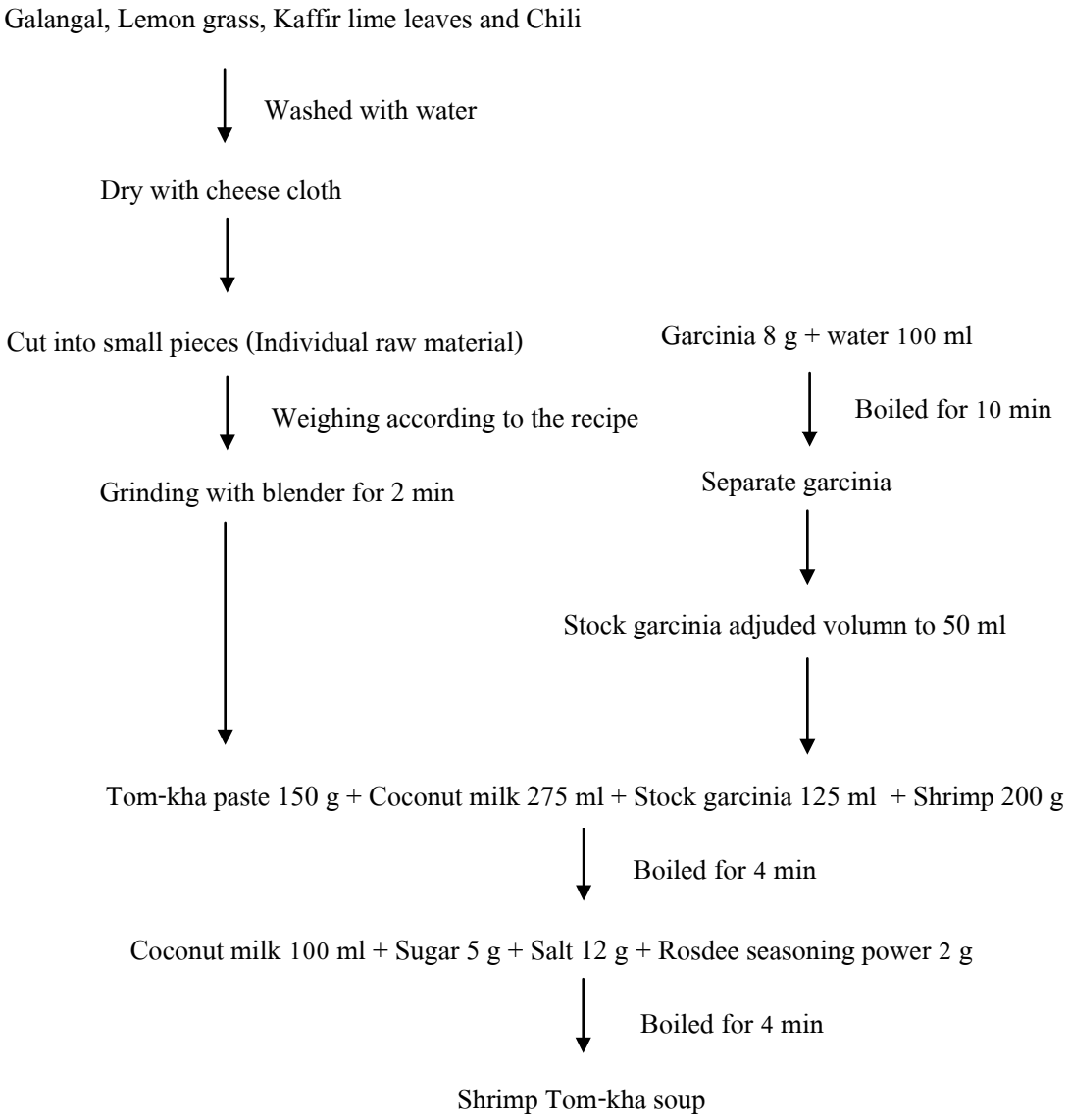

Figure 22. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup preparation

2. ศึกษาสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า

2.1 ผลของสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่า

2.1.1 นำเครื่องเทศจากสูตรที่คัดเลือกได้ในตอนที่ 1 ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 72-73 ก่อนนำไปสกัดด้วยระบบของการสกัด ดังต่อไปนี้

2.1.1.1 สกัดด้วยน้ำ โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องเทศต่อน้ำเท่ากับ 1:5 และ 1:10 แช่ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ± 2^{o}ซ นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ (vacuum aspirator) แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดด้วยน้ำอีก 2 รอบการสกัด (ดัดแปลงจาก Li-E *et al*., 2008)

2.1.1.2 สกัดด้วยเอธานอล ที่ระดับความเข้มข้นของเอธานอลร้อยละ 50, 75 และ 95 โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องเทศต่อสารสกัดเท่ากับ 1:5 และ 1:10 แช่ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2^{o}ซ) นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 โดยใช้เครื่องกรองแบบสุญญากาศ แล้วนำกากที่เหลือไปสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นต่างๆอีก 2 รอบการสกัด (ดัดแปลงจาก Li-E *et al*., 2008)

2.1.2 นำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้จากทั้ง 2 ระบบ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ไประเหยสารสกัดออกให้เหลือปริมาตร 25 มิลลิลิตร โดยใช้ rotary evaparator ที่อุณหภูมิ 45^{0}ซ สำหรับสารสกัดด้วยน้ำใช้ความดัน 72 มิลลิบาร์ (mbar) เป็นเวลาประมาณ 2 ชั่วโมง ส่วนสารสกัดด้วยเอธานอลใช้ความดัน 175 มิลลิบาร์ เป็นเวลาประมาณ 15 นาที ตรวจสอบปริมาณของแข็ง (solid content) แล้วบรรจุในขวดแก้วสีชา เก็บที่อุณหภูมิ -20 ± 2^{0}ซ

2.1.3 ทดสอบสมบัติทางกายภาพ เคมีและการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบที่ได้

2.1.3.1 สมบัติทางกายภาพ ได้แก่

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L*, a*, b* และ CIE L*, C*, H^{o}
- พีเอช (Bartolome *et al*., 1995)

2.1.3.2 สมบัติทางเคมี ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (g GAE/100 g dw.) (Kahkonen *et al*., 1999)

2.1.3.3 สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (μmole TE/ g dw.) (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

2.2 ผลของสภาวะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มข่า

2.2.1 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่าตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 72-73

2.2.2 นำเครื่องต้มข่าที่ได้ ไปสกัดด้วยระบบของการสกัดและทำการตรวจสอบสมบัติต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 2.1

2.3 คัดเลือกสถาวะการสกัดที่เหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า

คัดเลือกชนิดของตัวทำละลาย และอัตราส่วนระหว่างตัวอย่างต่อตัวทำละลายที่เหมาะสม ในการสกัดสารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า โดยพิจารณาจากปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบ

3. การศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า

3.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่า

3.1.1 นำสารสกัดหยาบที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนโดยใช้อ่างน้ำมัน (oil bath) ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100^{0}ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรของสารละลายที่ได้ เป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

3.1.2 นำสารสกัดหยาบที่ผ่านการให้ความร้อนจากข้อ 3.1.1 มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

3.2 ผลของความร้อนต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มข่า

3.2.1 นำสารสกัดหยาบที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร แล้วให้ความร้อนโดยใช้อ่างน้ำมัน ที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100^{0}ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ทำให้เย็นทันทีที่อุณหภูมิห้องและปรับปริมาตรของสารละลายที่ได้ เป็น 5 มิลลิลิตร ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75

3.2.2 นำสารสกัดหยาบที่ผ่านการให้ความร้อนจากข้อ 3.2.1 มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

4. ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า

4.1 ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่า

4.1.1 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร เตรียมให้มีพีเอช 2, 5, 7, 8 และ 9 ด้วย 0.1, 1 N HCl และ 0.1, 1 N NaOH แล้วเติม 0.2 M citrate phosphate buffer (พีเอช 2 และ 5) และ 0.2 M phosphate buffer (พีเอช 7, 8 และ 9) วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (29 $\pm$ 2 ^{o}ซ) แล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด (ปริมาตรของสารสกัดหยาบ หลังจากปรับพีเอชมีค่าเท่ากับ 10 มิลลิลตร) (ดัดแปลงจาก Juntachote and Berghofer, 2005; Binson *et al*., 2008)

4.1.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 4.1.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

4.2 ผลของพีเอชต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องต้มข่า

4.2.1 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 2.3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองยี่ห้อ Pyrex ขนาด 16×150 มิลลิลิตร เตรียมให้มีพีเอช 2, 5, 7, 8 และ 9 ด้วย 0.1, 1 N HCl และ 0.1, 1 N NaOH แล้วเติม 0.2 M citrate phosphate buffer (พีเอช 2 และ 5) และ 0.2 M phosphate buffer (พีเอช 7, 8 และ 9) วางทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (29 $\pm$ 2 ^{o}ซ) แล้วปรับพีเอชให้ได้เท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด (ปริมาตรของสารสกัดหยาบ หลังจากปรับพีเอชมีค่าเท่ากับ 10 มิลลิลตร) (ดัดแปลงจาก Juntachote and Berghofer, 2005; Binson *et al*., 2008)

4.2.2 นำสารสกัดหยาบที่ได้จากข้อ 4.2.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)

- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

5. การพัฒนาสูตรเครื่องต้มข่าให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง

5.1 นำสูตรที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 1 มาปรับปรุงให้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้น โดยการศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของข่าและพริกขี้หนู ซึ่งเป็นเครื่องเทศที่แสดงสมบัติในการต้านออกซิเดชันและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอช โดยกำหนด

ปริมาณของข่าและพริกขี้หนูรวมกันไม่เกิน ร้อยละ 50.00 และทำการปรับอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนู โดยจัดชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice (Montgomery, 2001) ได้สูตรที่ต้องการศึกษา 5 สูตรการทดลอง ทำซ้ำ 3 สูตรการทดลอง (สูตรการทดลอง 1-8, Table 11) ซึ่งสูตรที่ได้เป็นสูตรการทดลองที่ครอบคลุมถึงสูตรพื้นฐานที่ได้จากตอนที่ 1

Table 11. Formula of Tom-kha paste in antioxidant properties improvement

Formulation	Galangal (%)	Chili (%)	Lemon grass (%)	Kaffir lime leaves (%)
1	45.00	5.00	47.00	3.00
2	32.50	17.50	47.00	3.00
3	38.75	11.25	47.00	3.00
4	20.00	30.00	47.00	3.00
5	20.00	30.00	47.00	3.00
6	45.00	5.00	47.00	3.00
7	32.50	17.50	47.00	3.00
8	26.25	23.75	47.00	3.00

5.2 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่าตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 64-65 แล้วแบ่งเครื่องต้มข่าที่ได้ออกเป็น 2 ส่วน ได้แก่

ส่วนที่ 1 นำเครื่องต้มข่ามาปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน

ส่วนที่ 2 นำเครื่องต้มข่ามาสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 อัตราส่วนของเครื่องต้มข่า:เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 เท่ากับ 1:10 (ดังตอนที่ 2.2) แล้ววิเคราะห์สมบัติทางเคมีและการต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)
- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

5.3 นำข้อมูลที่ได้จากข้อ 5.2 ไปวิเคราะห์ความแปรปรวนและวิเคราะห์สมการถดถอยเพื่อหาสมการจำลองที่ใช้ในการทำนายคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส (ลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติ และความชอบรวม) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP) จากนั้นใช้สมการแต่ละชุด plot แนวโน้มค่าตอบสนองลงบนแผนภูมิคอนทัวร์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc, MN, USA) คัดเลือกสูตรโดยพิจารณาจากคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน เพื่อใช้ในการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

5.4 นำสูตรเครื่องต้มข่าที่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบและมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์

5.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L*, a*, b*
- พีเอช (Bartolome *et al*., 1995)
- a_w
- ความชื้น (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)

5.4.2 คุณสมบัติทางเคมี

- ปริมาณเยื่อใย (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)
- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของตัวอย่างแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

5.4.3 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)
- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่างแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

5.4.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทั้ง Mesophile และ Psychrophile (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- Lactic acid bacteria (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)

- Coliforms, *E. coli* (MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- *S. aureus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- *B. cereus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- *C. perfringens* (โคโลนีต่อ 0.001 กรัมของเครื่องต้มข่า) (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)
- Yeast และ mold (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)

6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ และอุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ)

6.1 นำเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่าตามสูตรที่ได้รับการพัฒนาจากตอนที่ 5 (วิธีการเตรียมเครื่องต้มข่าตามที่แสดงในการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 72-73) แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุดการทดลองคือ

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีการเติมเกลือ

ชุดการทดลองที่ 2 เติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

บรรจุในถุงโพลีเอทิลีน (LDPE) ในสภาวะที่ไม่มีอากาศ เก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ และอุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ) เป็นเวลา 56 วัน

6.2 วิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ ทุกๆ 7 วันและทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทุกๆ 9 วัน เป็นเวลา 58 วัน

6.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ

- ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L*, a*, b* และ CIE L*, C*, H°
- พีเอช (Bartolome *et al*., 1995)

6.2.2 คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่

- Total phenolic contents รายงานค่าในรูปของกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของเครื่องต้มข่าแห้ง (Kahkonen *et al*., 1999)

6.2.3 คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ

- DPPH radical scavenging assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มข่าแห้ง (ดัดแปลงจาก Wu *et al*., 2003)
- ABTS radical cation decolorization assay รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มข่าแห้ง (ดัดแปลงจาก Arnao *et al*., 2001)

- Ferric ion Reducing/Antioxidant Power (FRAP) รายงานค่าในรูปของไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของเครื่องต้มข่าแห้ง (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

6.2.4 คุณภาพทางจุลินทรีย์

- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ทั้ง Mesophile, Psychrophile และ Anaerobe (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- Lactic acid bacteria (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- Coliforms, *E. coli* (MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- *S. aureus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (Speck, 1976)
- *B. cereus* (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)
- *C. perfringens* (โคโลนีต่อ 0.001 กรัมของเครื่องต้มข่า) (ดัดแปลงจาก BAM, 2001)
- Yeast และ mold (โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า) (BAM, 2001)

6.2.5 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำเครื่องต้มข่าไปปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง ซึ่งมีขั้นตอนดังแสดงใน Figure 22 แล้วทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 30 คน

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) ในข้อ 2.1, 2.2, 4.1, 4.2 และ 6.2 และจัดชุดการทดลองแบบแฟกทอเรียล 4×3 สำหรับข้อ 3.1 และ 3.2 ในแต่ละชุดการทดลองทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในข้อ 1.3, 5.2 และ 6.2.5 วางแผนการทดลองแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Random Complete Block Design, RCBD) นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองโดยใช้ Duncan's Multiple Range Test (DMRT) โดยใช้โปรแกรม SPSS for Window Version 6.0 การปรับอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูในข้อ 5.1 จัดชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice design สร้างสมการจำลองที่ใช้ในการทำนายคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน โดยการวิเคราะห์รีเกรสชั่นและการสร้างแผนภูมิคอนทัวร์โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., MN, USA)

7. ศึกษาการใช้เครื่องต้มข่าในการมาริเนทกุ้งขาว

7.1 ส่วนผสมของเครื่องต้มข่า ประกอบด้วย ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด ร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ

7.2 นำเครื่องเทศจากข้อ 7.1 มาเตรียมเป็นเครื่องต้มข่า ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบหน้า 72-73

7.3 นำกุ้งขาวแวนนาไมขนาด 60-70 ตัว/กก. ทำการบันทึกน้ำหนักของกุ้งขาวทั้งตัว (ก่อนปอกเปลือกและแกะหัว) กุ้งขาวปอกเปลือกและหัว และกุ้งขาวปอกเปลือกและหัวที่ผ่านการแช่สารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟต ความเข้มข้นร้อยละ 2 ในอัตราส่วนกุ้งต่อสารละลาย 1:1.5 ที่อุณหภูมิ 4°ซ นาน 1 ชั่วโมง นำไปสะเด็ดน้ำบนตะแกรง นาน 2 นาที

7.4 นำเครื่องต้มข่าที่เตรียมไว้จากข้อ 7.1 มาหมักกับกุ้งขาวที่เตรียมได้จากข้อ 7.3 ในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 และบรรจุในถุง Nylon/LLDPE ขนาด 26 × 29 เซนติเมตร ที่มีความหนา 0.093±0.002 มิลลิเมตร โดยมีชุดทดลองดังต่อไปนี้ กุ้งชุดควบคุมคือกุ้งขาวสดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T1) กุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T2) กุ้งขาวสดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) กุ้งขาวมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) ด้วยแก๊สผสม 3 ชนิด ได้แก่ คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ออกซิเจน (O_2) และไนโตรเจน (N_2) ความเข้มข้นต่างๆ โดยอัตราส่วนของแก๊ส CO_2: O_2: N_2 จำนวน 2 อัตราส่วน (ดัง Table 12)

Table 12. Treatments of shrimp marinated with/without Tom-kha paste and packaged under various atmospheric conditions during chilled storage at 4°C

Treatment	Packaging conditions
T1	without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control
T2	marinated with Tom-kha paste and kept under normal air
T3	without marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO_2, 5% O_2, 55% N_2
T4	marinated with Tom-kha paste and kept under 40% CO_2, 5% O_2, 55% N_2
T5	without marinated with Tom-kha paste and kept under

Table 12. Treatments of shrimp marinated with/without Tom-kha paste and packaged under various atmospheric conditions during chilled storage at 4°C (continued)

Treatment	Packaging conditions
T6	50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2 marinated with Tom-kha paste and kept under 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

นำกุ้งขาวแต่ละชุดการทดลองที่ปิดผนึกแล้ว เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 4 วัน เป็นระยะเวลา 20 วัน เพื่อวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังนี้

7.4.1 คุณภาพทางกายภาพ

7.4.1.1 วิเคราะห์ค่าสี โดยใช้เครื่องวัดค่าสี Hunter Lab รายงานค่าในระบบ CIE L*, a*, b*

7.4.1.2 วัดค่าพีเอช (Bartolome *et al.,* 1995)

7.4.1.3 วัดค่า a_w

7.4.1.4 ความชื้น (ร้อยละ) (A.O.A.C., 1999)

7.4.1.5 drip loss, cooking loss (อาสีนะ หมัดเจริญ, 2547)

7.4.1.6 ลักษณะเนื้อสัมผัส (Wattanachant et al., 2005)

7.4.1.7 ลักษณะโครงสร้างทางจุลภาพ SEM

7.4.2 คุณภาพทางเคมี ได้แก่

7.4.2.1 TVB-N, TMA-N (Conway and Byrne, 1936)

7.4.2.2 TBARS (Egan *et al.,* 1981)

7.4.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่

7.4.3.1 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) (BAM, 2001)

7.4.3.2 Coliforms, *E. coli* (BAM, 2002)

7.4.3.3 *S. aureus* (BAM, 2001)

7.4.4 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

นำกุ้งขาวที่มาริเนท/ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าไปปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง ซึ่งมี

ขั้นตอนดังแสดงใน Figure 23 และ Figure 24 แล้วทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ตามวิธีของ Meilgaard และคณะ (1999) โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 30 คน

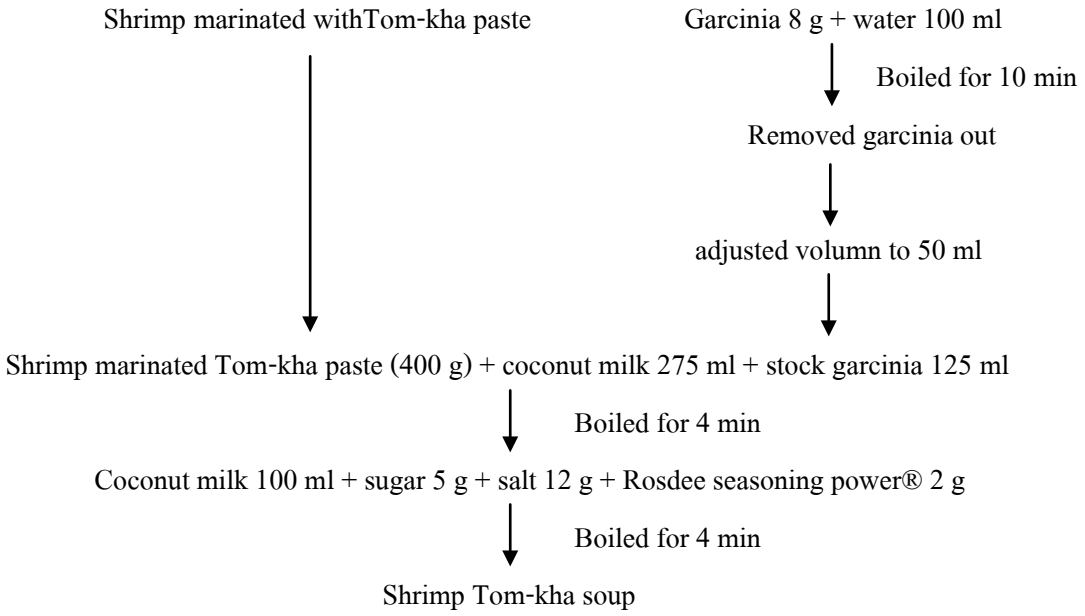

Figure 23. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made from shrimp marinated with Tom-kha paste

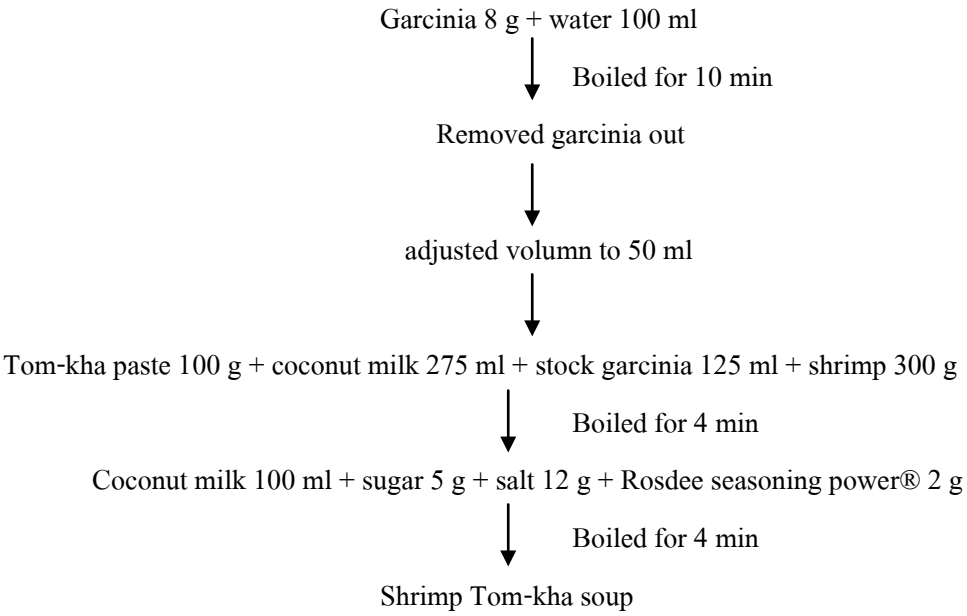

Figure 24. Flow diagrams of shrimp Tom-kha soup made shrimp without marinated Tom-kha paste