

### บทที่ 3

#### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

##### 1. การคัดเลือกสูตรพื้นฐานของเครื่องต้มยำ

ผลการสำรวจสูตรของเครื่องต้มยำจากตำรับอาหารและอินเทอร์เน็ต และคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุดจำนวน 5 สูตร แสดงดัง Table 10 จากนั้นนำเครื่องต้มยำแต่ละสูตรไปบดให้ละเอียดเป็นเครื่องแกงหยาบขนาด 9-20 เมช (ตามวิธีการเตรียมวัตถุดิบในหน้า 64-65) ก่อนนำไปปรุงเป็นต้มยำกุ้ง (วิธีการปรุงแสดงดัง Figure 22) โดยมีอัตราส่วนเครื่องต้มยำ:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กุ้งเท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อน้ำหนัก) และมีการเติมเครื่องปรุงรสคือน้ำตาลร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เกลือร้อยละ 2.8 (น้ำหนักต่อปริมาตร) วัตถุดิบแต่งรสอาหารรสไปร้อยละ 0.4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อไม่ให้คุณภาพและปริมาณของกุ้งเป็นปัจจัยทำให้เกิดความเบี่ยงเบนคะแนนการยอมรับของผู้ทดสอบ การทดลองในครั้งนี้จึงวิเคราะห์เฉพาะในส่วนของการนำน้ำซุปลงไปวิเคราะห์ค่าทางกายภาพพบว่า น้ำซุปล้มข่ากุ้งมีพีเอชเป็นกรด โดยมีค่าอยู่ในช่วง 4.18-4.38 เนื่องจากการเติมน้ำส้มแขกเพื่อเพิ่มรสเปรี้ยว และพบว่าสูตรที่ 4 และ 5 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณข่าสูง มีพีเอชต่ำกว่าสูตรอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อวิเคราะห์พีเอชของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด พบว่าข่าสดมีพีเอชต่ำกว่าองค์ประกอบอื่นๆ (Table 13)

Table 13. pH of fresh spices used in Tom-kha paste

| Components         | pH                |
|--------------------|-------------------|
| Galangal           | $4.70 \pm 0.01^d$ |
| Lemon grass        | $5.39 \pm 0.02^b$ |
| Chili              | $5.09 \pm 0.01^c$ |
| Kaffir lime leaves | $5.45 \pm 0.02^a$ |

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

นอกจากนี้พบว่าน้ำซุปล้มข่ากุ้งมีสีแดงเหลืองเล็กน้อย โดยมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$  และ  $b^*$  อยู่ในช่วง 62.48-76.67, 4.68-9.33 และ 19.53-28.79 ตามลำดับ (Table 14) และน้ำซุปล้มข่ากุ้งที่มีพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบมาก น้ำซุปล้มข่ากุ้งนั้นจะมีสีแดงมากขึ้น สอดคล้องกับการเพิ่มขึ้นของค่า

a\* ทั้งนี้เนื่องจากพริกขี้หนูมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนทิน แคปซอรูบินและ แคปซอฟิลล์ (สีแดง) และเบต้าแคโรทีน ซีแซนทิน แอนเทอร์ราแซนทิน ไวโอลาแซนทิน เบต้าคริบโตแซนทิน (สีเหลืองส้ม) (Ittah *et al.*, 1993; Berke and Shieh, 2001; Hornero-Mende *et al.*, 2000) ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง และสามารถละลายได้ในน้ำกะทิ

Table 14. Effect of Tom-kha paste formula(s) on L\*, a\*, b\* values and pH of Tom-kha soup

| Formulation <sup>†</sup> | Color                     |                          |                           | pH                        |
|--------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                          | L*                        | a*                       | b*                        |                           |
| 1                        | 76.67 ± 0.46 <sup>a</sup> | 4.68 ± 0.09 <sup>c</sup> | 19.53 ± 0.19 <sup>c</sup> | 4.37 ± 0.014 <sup>a</sup> |
| 2                        | 62.48 ± 0.39 <sup>d</sup> | 9.33 ± 0.14 <sup>a</sup> | 28.79 ± 0.18 <sup>a</sup> | 4.38 ± 0.017 <sup>a</sup> |
| 3                        | 72.38 ± 0.43 <sup>b</sup> | 5.50 ± 0.17 <sup>b</sup> | 23.14 ± 0.12 <sup>d</sup> | 4.29 ± 0.017 <sup>b</sup> |
| 4                        | 68.90 ± 0.41 <sup>c</sup> | 4.93 ± 0.25 <sup>c</sup> | 24.65 ± 0.29 <sup>b</sup> | 4.18 ± 0.005 <sup>c</sup> |
| 5                        | 68.91 ± 0.13 <sup>c</sup> | 5.70 ± 0.26 <sup>b</sup> | 23.73 ± 0.33 <sup>c</sup> | 4.20 ± 0.005 <sup>c</sup> |

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

<sup>†</sup> Ingredient composition of each formulation was showed in Table 10

จากการนำน้ำซุปลดน้ำข่ากึ่งมาทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 9 = ชอบมากที่สุด ตามภาคผนวก จ1) กับผู้ทดสอบชิม 30 คน พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบน้ำซุปลดน้ำข่ากึ่งในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นเครื่องเทศ และรสชาติของแต่ละสูตรแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) (Table 15) แต่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบน้ำซุปลดน้ำข่ากึ่งในด้านความหนืดและความชอบรวมไม่แตกต่างกัน (p≥0.05)

คะแนนความชอบน้ำซุปลดน้ำข่ากึ่งในด้านกลิ่นเครื่องเทศและรสชาติ มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05) ในสูตรของเครื่องดัดน้ำที่ประกอบด้วยข่าร้อยละ 76.92 (Table 16) ทั้งนี้เนื่องจากในข่ามีสารให้กลิ่นรสฉุน (pungent) ดังนั้น น้ำซุปลดน้ำข่ากึ่งที่เตรียมจากเครื่องดัดน้ำที่มีปริมาณของข่าสูง จะมีกลิ่นรสฉุนสูงกว่าสูตรอื่นๆ ส่งผลให้คะแนนความชอบในคุณลักษณะด้านกลิ่นเครื่องเทศและรสชาติมีค่าน้อยกว่าสูตรอื่นๆ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่าเหง้าข่ามีกลิ่นรส woody, floral และ spicy note (Kubota *et al.*, 1999) นอกจากนี้ Yang และ Eilerman (1999) รายงานว่าสารให้กลิ่นรสฉุนในข่าคืออะซิโกลาลองอะซิเตท (galangal acetate) ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสฉุน มีลักษณะเฉพาะ ให้ความเผ็ดร้อนน้อยกว่าแคปไซซินและไม่มีลักษณะติดลิ้น

Table 15. Effect of Tom-kha paste formula(s) on consumer preference of Tom-kha soup evaluated with 30 panelists by 9-point hedonic scale

| Formulation <sup>†</sup> | Attribute                 |                           |                          |                           |                           |                          |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|
|                          | Appearance                | Color                     | Viscosity                | Spices odor               | Taste                     | Overall liking           |
| 1                        | 6.97 ± 1.45 <sup>ab</sup> | 7.17 ± 1.09 <sup>ab</sup> | 6.77 ± 1.46 <sup>a</sup> | 6.87 ± 1.22 <sup>ab</sup> | 7.07 ± 1.17 <sup>a</sup>  | 7.13 ± 1.17 <sup>a</sup> |
| 2                        | 6.63 ± 1.34 <sup>b</sup>  | 6.63 ± 1.38 <sup>b</sup>  | 6.43 ± 1.52 <sup>a</sup> | 6.83 ± 1.56 <sup>ab</sup> | 6.63 ± 1.54 <sup>ab</sup> | 6.60 ± 1.50 <sup>a</sup> |
| 3                        | 7.47 ± 0.90 <sup>a</sup>  | 7.43 ± 0.86 <sup>a</sup>  | 7.10 ± 0.92 <sup>a</sup> | 7.00 ± 1.17 <sup>a</sup>  | 6.80 ± 1.34 <sup>a</sup>  | 7.17 ± 1.12 <sup>a</sup> |
| 4                        | 6.83 ± 1.11 <sup>ab</sup> | 6.73 ± 1.23 <sup>b</sup>  | 6.77 ± 1.04 <sup>a</sup> | 6.27 ± 1.48 <sup>ab</sup> | 6.30 ± 1.77 <sup>ab</sup> | 6.50 ± 1.38 <sup>a</sup> |
| 5                        | 6.77 ± 1.22 <sup>b</sup>  | 6.83 ± 1.18 <sup>ab</sup> | 6.50 ± 0.97 <sup>a</sup> | 6.07 ± 1.91 <sup>b</sup>  | 5.87 ± 1.98 <sup>b</sup>  | 6.43 ± 1.59 <sup>a</sup> |

<sup>a-b</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

<sup>†</sup> Ingredient composition of each formulation was showed in Table 10

(lingering effect) Kubota และคณะ (1998) รายงานว่าอะซิโทซิซีนีโอล (acetoxycineoles) จำนวน 4 ไอโซเมอร์ (isomer) ได้แก่ (trans และ cis)-2- และ 3-acetoxy-1,8-cineoles เป็นสารที่ให้กลิ่นในเหง้าชาโดยแต่ละไอโซเมอร์ให้กลิ่นที่มีลักษณะเฉพาะคือ (trans และ cis)-2 isomers ให้กลิ่น woody และ sweet aromas ตามลำดับ ในขณะที่ (trans และ cis)-3 isomers ให้กลิ่น sweet floral และ camphoraceous aromas ตามลำดับ โดย trans-2-acetoxy-1,8-cineole เป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นเฉพาะในเหง้าชา

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าสูตรที่ 3 ซึ่งประกอบด้วยชา ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูดร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ ได้รับคะแนนความชอบของน้ำชูปดัมข่ากึ่งในแต่ละคุณลักษณะสูงกว่าสูตรอื่นๆ และมีคะแนนเฉลี่ยสูงกว่า 6.8 (Table 15) จึงคัดเลือกสูตรที่ 3 ไปเป็นต้นแบบการศึกษาในการปรับปรุงรสชาติและศึกษาในขั้นตอนต่อไป

เนื่องจากมีผู้ทดสอบชิมร้อยละ 46.67 ให้ข้อเสนอแนะว่าน้ำชูปดัมข่ากึ่งมีรสเค็ม ดังนั้นจึงนำเครื่องดัมข่าสูตรที่ 3 มาปรับปรุงรสชาติ โดยใช้อัตราส่วนของเครื่องดัมข่า:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กึ่ง เท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อน้ำหนัก) น้ำตาลร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) วัตถุปรุงแต่งรสอาหารรสไก่อ้อยละ 0.4 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และใช้ปริมาณเกลือที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือร้อยละ 2, 2.4, 2.8 และ 3.2 ตามลำดับ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำน้ำชูปดัมข่ากึ่งที่ได้ ไปทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี 9-point hedonic scale และ just about right (5-point intensity scale) โดยกำหนดให้ -2 คือความเข้มข้น 0 คือความเข้มข้นพอดี และ 2 คือความเข้มข้นมาก (ภาคผนวก จ2) จากการทดลองพบว่าสูตรที่ใช้ในการปรุงดัมข่ากึ่ง คือใช้อัตราส่วนเครื่องดัมข่า:น้ำกะทิผสมน้ำส้มแขก:กึ่ง เท่ากับ 1.5:5:2 (น้ำหนักต่อปริมาตรต่อ น้ำหนัก) ใช้ปริมาณของน้ำตาลร้อยละ 1 น้ำส้มแขกร้อยละ 25 และเกลือร้อยละ 2.4 ทำให้น้ำชูปดัมข่ากึ่งมีคะแนนความชอบในด้านกลิ่นเครื่องเทศ ความหวาน ความเปรี้ยว และความเค็ม เท่ากับ  $6.64 \pm 1.45$ ,  $7.33 \pm 0.82$ ,  $6.91 \pm 1.36$  และ  $7.21 \pm 0.89$  (Table 16) ตามลำดับ และมีคะแนนเฉลี่ยความเค็มเท่ากับ  $-0.15 \pm 0.94$ ,  $-0.27 \pm 0.5$ ,  $-0.36 \pm 0.70$  และ  $0.06 \pm 0.56$  (Table 17) ตามลำดับ ซึ่งใกล้เคียงค่าพอดี (คะแนนเท่ากับ 0) ดังนั้นจึงใช้อัตราส่วนของเครื่องดัมข่าและปริมาณของน้ำตาล น้ำส้มแขก วัตถุปรุงแต่งรสอาหารรสไก่อ้อยละและเกลือข้างต้นมาใช้ในการปรุงเป็นดัมข่ากึ่ง สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสในการทดลองต่อไป

Table 16. Sensory score of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists by 9-point hedonic scale

| Salt (% w/v) | Attribute                |                           |                           |                           |
|--------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|              | Spices odor              | Sweet                     | Sour                      | Salty                     |
| 2            | 7.30 ± 0.98 <sup>a</sup> | 7.15 ± 0.91 <sup>ab</sup> | 6.09 ± 1.44 <sup>b</sup>  | 6.79 ± 1.39 <sup>ab</sup> |
| 2.4          | 6.64 ± 1.45 <sup>a</sup> | 7.33 ± 0.82 <sup>a</sup>  | 6.91 ± 1.36 <sup>a</sup>  | 7.21 ± 0.89 <sup>a</sup>  |
| 2.8          | 6.91 ± 1.28 <sup>a</sup> | 6.94 ± 1.03 <sup>ab</sup> | 6.58 ± 1.50 <sup>ab</sup> | 7.00 ± 1.09 <sup>a</sup>  |
| 3.2          | 6.76 ± 1.64 <sup>a</sup> | 6.70 ± 1.29 <sup>b</sup>  | 6.70 ± 1.40 <sup>ab</sup> | 6.24 ± 1.87 <sup>b</sup>  |

<sup>a-b</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

Table 17. Average score of just about right of Tom-kha soup added with various salt levels evaluated with 30 panelists

| Salt (% w/v) | Attribute    |              |              |              |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
|              | Spices odor  | Sweet        | Sour         | Salty        |
| 2            | 0.21 ± 0.70  | -0.30 ± 0.64 | -0.85 ± 0.57 | -0.30 ± 0.77 |
| 2.4          | -0.15 ± 0.94 | -0.27 ± 0.52 | -0.36 ± 0.70 | 0.06 ± 0.56  |
| 2.8          | -0.48 ± 0.71 | -0.58 ± 0.71 | -0.42 ± 0.79 | 0.30 ± 0.68  |
| 3.2          | -0.27 ± 0.80 | -0.39 ± 0.70 | -0.39 ± 0.79 | 0.91 ± 0.77  |

## 2. ผลของสถานะการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

เมื่อนำข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มยำ จากสูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาสกัดด้วยน้ำ เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:10 และ 1:5 พบว่า

### สารสกัดหยาบของข่า

หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.73-4.86 ส่วนสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 4.71-4.91, 4.66-5.00 และ 5.55-5.90 ตามลำดับ (Table 17) จะเห็นได้ว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารสกัดหยาบของข่ามีค่าเพิ่มขึ้น อาจเนื่องจากสารที่ให้ความเป็นกรดในข่า เช่น วิตามินซี กรดซิตริก และ/หรือกรดอ่อนอื่นๆ เป็นสารที่มีความเป็นขี้สูง สามารถละลายในน้ำได้ดีกว่าเอธานอล เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลายพบว่าการสกัดข่าที่อัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:5 (ในทุกตัวทำละลาย) ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากอัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีปริมาณของข่าซึ่งมีพีเอชเป็นกรดมากกว่า

ค่าสีของสารสกัดหยาบของข่าหลังระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 แสดงค่าในระบบ CIE L\*, a\*, b\* และ CIE L\*, C\*, H° จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของข่ามีค่า L\*, a\*, b\*, C\* และ H° อยู่ในช่วง 46.53-72.06, -0.65-13.84, 19.13-49.16, 19.14-49.64 และ 63.83-91.94 ตามลำดับ (Table 18) สารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำมีความสว่างมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 75 และ 50 ตามลำดับ สารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 มีสีแดงเหลืองและเป็นตะกอน ส่วนสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีลักษณะใสและมีสีแดงเหลือง (Figure 25) สารสกัดหยาบของข่าด้วยน้ำมีสีแดงค่อนข้างเหลืองมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 75 และ 50 (พิจารณาจากค่า H°, 0° = สีแดง, 90° = สีเหลือง) นอกจากนี้พบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลที่ใช้สกัดข่ามีค่าเพิ่มขึ้น สารสกัดหยาบที่ได้มีความบริสุทธิ์ของสีเพิ่มขึ้น (พิจารณาจากค่า C\*) การสกัดข่าที่อัตราส่วนของข่าต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีความสว่างมากกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 18) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน

Table 18. Effect of extraction conditions on pH and color of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated

| Ratio of galangal<br>and solvent | Solvent             | pH                      | Color value              |                         |                         |                          |                         |
|----------------------------------|---------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------------------|
|                                  |                     |                         | L*                       | a*                      | b*                      | C*                       | H <sup>o</sup>          |
| 1:5                              | Water extract       | 4.73±0.000 <sup>f</sup> | 66.57± 0.02 <sup>b</sup> | 1.24± 0.01 <sup>g</sup> | 20.03±0.07 <sup>g</sup> | 20.07±0.07 <sup>g</sup>  | 86.46±0.03 <sup>c</sup> |
|                                  | 50% ethanol extract | 4.71±0.000 <sup>g</sup> | 53.83±0.07 <sup>e</sup>  | 13.84±0.09 <sup>a</sup> | 28.16±0.19 <sup>e</sup> | 31.38±0.20 <sup>d</sup>  | 63.83±0.14 <sup>h</sup> |
|                                  | 75% ethanol extract | 4.66±0.005 <sup>h</sup> | 51.17±0.02 <sup>g</sup>  | 10.37±0.07 <sup>b</sup> | 30.78±0.03 <sup>c</sup> | 32.48±0.05 <sup>c</sup>  | 71.37±0.11 <sup>g</sup> |
|                                  | 95% ethanol extract | 5.55±0.005 <sup>b</sup> | 61.55±0.01 <sup>d</sup>  | 6.94±0.06 <sup>c</sup>  | 49.16±0.22 <sup>a</sup> | 49.64±0.21 <sup>a</sup>  | 81.96±0.10 <sup>d</sup> |
| 1:10                             | Water extract       | 4.86±0.006 <sup>e</sup> | 72.06±0.02 <sup>a</sup>  | -0.65±0.02 <sup>h</sup> | 19.13±0.02 <sup>h</sup> | 19.14 ±0.02 <sup>h</sup> | 91.94±0.05 <sup>a</sup> |
|                                  | 50% ethanol extract | 4.91±0.006 <sup>d</sup> | 52.78±0.02 <sup>f</sup>  | 6.28±0.07 <sup>d</sup>  | 21.97±0.16 <sup>f</sup> | 22.85±0.14 <sup>f</sup>  | 74.05±0.26 <sup>f</sup> |
|                                  | 75% ethanol extract | 5.00±0.006 <sup>c</sup> | 46.53±0.03 <sup>h</sup>  | 6.09±0.06 <sup>e</sup>  | 30.22±0.09 <sup>d</sup> | 30.83±0.07 <sup>c</sup>  | 78.60±0.13 <sup>e</sup> |
|                                  | 95% ethanol extract | 5.90±0.026 <sup>a</sup> | 65.88±0.02 <sup>c</sup>  | 2.02±0.5 <sup>f</sup>   | 42.45±0.07 <sup>b</sup> | 42.50±0.06 <sup>b</sup>  | 87.27±0.07 <sup>b</sup> |

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-h</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

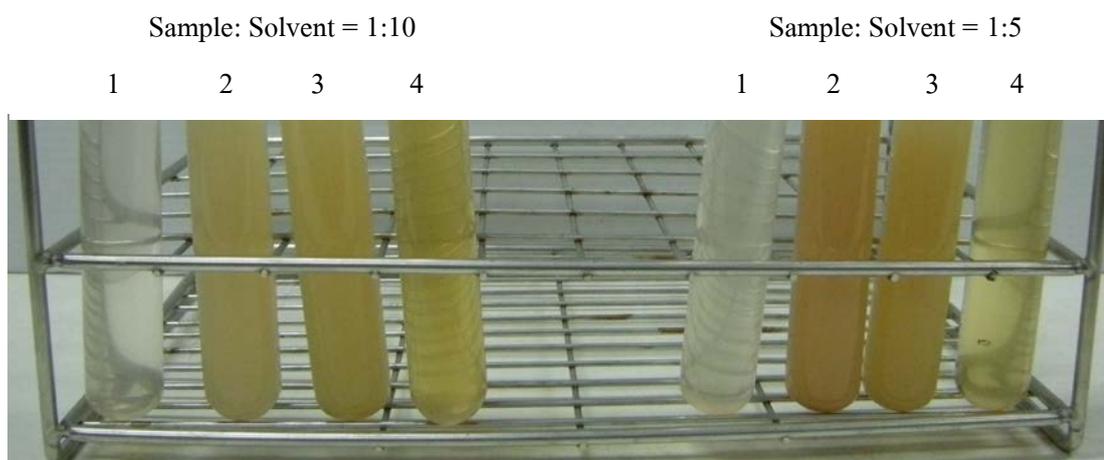


Figure 25. Appearance of crude galangal extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

ของข่าต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเข้มข้นน้อยกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5

กฤติกา นรจิตร (2548) ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันหอมระเหยที่สกัดจากพืชข่าขิง 5 ชนิด ได้แก่ ขิง(*Zingiber officinale* Roscoe.) ข่า (*galangal, Alpinia galanga* Sw.) ขมิ้นชัน (*turmeric, Curcuma longa* L.) กระชาย (*kaempferia, Boesenbergia pandurata* Holtt.) และเร่วหอม (*bastard cardamom, Amomum xanthioides* Wall.) โดยการต้มกลั่นและการสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิด คือปิโตรเลียมอีเธอร์และเอทานอล พบว่า น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่นและสกัดโดยใช้ตัวทำละลายมีสีที่แตกต่างกัน กล่าวคือน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการต้มกลั่นมีสีเหลืองอ่อนใส มีค่า L, a, b เท่ากับ 36.5, -1.0 และ 1.5 ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยที่สกัดด้วยเอทานอลและปิโตรเลียมอีเธอร์ มีสีน้ำตาลเขียวเข้ม มีค่า L, a, b เท่ากับ 29.9, 2.6 และ 0.4 และ 35.5, 25.3 และ 7.7 ตามลำดับ น้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายมีสีเข้มกว่าน้ำมันหอมระเหยที่ได้จากการกลั่น เนื่องจากการสกัดด้วยตัวทำละลายทำให้สกัดสารอื่นๆนอกจาก น้ำมันหอมระเหยปะปนออกมา เช่น รงควัตถุ โปรตีน เซลลูโลส แป้ง เป็นต้น (Purseglove *et al.*, 1981) นอกจากนี้ Zaeoung (2004) พบว่า สารสกัดของข่าหลังจากระเหยตัวทำละลายออกมีลักษณะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวทำละลาย กล่าวคือสารสกัดข่าด้วยน้ำมีลักษณะเป็นยางสีน้ำตาลเหลือง (yellowish brown gum) ส่วนสารสกัดข่าด้วยเมทานอลมีลักษณะเป็นยางสีดำ (black oily gum) และน้ำมันหอมระเหยมีลักษณะเป็นยางสีเหลือง (yellow oil) Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดข่าด้วยน้ำและเอทานอลร้อยละ 50

หลังการระเหยตัวทำละลายออกอย่างสมบูรณ์มีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาลอ่อน (light brown powder) ส่วนน้ำมันหอมระเหยเป็นของเหลวใสมีสีอ่อนๆ

สารสกัดหยาบของข่าที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.06-0.18 ต่อกรัมของข่าแห้ง (Table 19) การสกัดที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (คำนวณในรูปน้ำหนักแห้ง) สูงกว่าของสารสกัดหยาบของข่าที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 19)

การใช้ตัวทำละลายเพิ่มขึ้นทำให้สามารถสกัดสารได้มากขึ้น เนื่องจากตัวทำละลายที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้แรงขับเคลื่อนในระหว่างการถ่ายโอนมวลภายในอนุภาคของตัวอย่าง (Cacace and Mazza, 2003) และสัมประสิทธิ์การแพร่มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของตัวอย่างและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อตัวอย่างไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญต่อสัมประสิทธิ์การแพร่  $\square$  ภายใต้เงื่อนไขที่ว่าการสกัดจะหยุดเมื่อถึงจุดสมดุล (Cacace and Mazza, 2003)

การสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พร้อมทั้งความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดีที่สุด (Table 19) รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Juntachote และคณะ (2006b) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดข่า ตะไคร้และโรสแมรี่ (rosemary) โดยวิธี RSM (response surface method) พบว่าอัตราส่วนของเอธานอลต่อน้ำ 3:1 ซึ่งเทียบได้กับเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 โดยประมาณ ทำให้สารสกัดข่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและรีดิวซ์ซิงพาวเวอร์สูงสุด Mahae และ Chaiseri (2009) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์และความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดข่าด้วยน้ำและน้ำมันหอมระเหย และพบว่าสารสำคัญในสารสกัดข่าด้วยเอธานอลร้อยละ 50 คือ อะซิโทซิชาวิกอลอะซิเตต (10.56 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และคาเทชิน (1.74 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) ส่วนสารสกัดข่าด้วยน้ำมีสารสำคัญคือ ไมริซีทิน (14.60 มิลลิกรัมต่อกรัมของสารสกัด) และน้ำมันหอมระเหยมีสารสำคัญคือ เมทิลยูจีนอล (4,130.37 ไมโครกรัมต่อกรัม) ซาวิคอล (2,390.45 ไมโครกรัมต่อกรัม) และ

Table 19. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts

| Ratio of galangal<br>and solvent | Solvent             | Solids content<br>(%/g dw.)    | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) |
|----------------------------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1:5                              | Water extract       | 0.100 $\pm$ 0.023 <sup>c</sup> | 0.80 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>        | 24.10 $\pm$ 3.04 <sup>c</sup>        | 127.62 $\pm$ 11.42 <sup>c</sup>      | 46.16 $\pm$ 7.59 <sup>d</sup>        |
|                                  | 50% ethanol extract | 0.114 $\pm$ 0.001 <sup>c</sup> | 0.88 $\pm$ 0.08 <sup>d</sup>        | 29.38 $\pm$ 5.82 <sup>c</sup>        | 146.57 $\pm$ 12.69 <sup>d</sup>      | 76.79 $\pm$ 5.67 <sup>c</sup>        |
|                                  | 75% ethanol extract | 0.147 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup> | 1.57 $\pm$ 0.16 <sup>c</sup>        | 29.78 $\pm$ 2.53 <sup>c</sup>        | 157.97 $\pm$ 9.58 <sup>cd</sup>      | 123.00 $\pm$ 6.06 <sup>a</sup>       |
|                                  | 95% ethanol extract | 0.056 $\pm$ 0.006 <sup>d</sup> | 1.45 $\pm$ 0.12 <sup>c</sup>        | 54.33 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>        | 127.02 $\pm$ 7.40 <sup>e</sup>       | 129.13 $\pm$ 8.43 <sup>a</sup>       |
| 1:10                             | Water extract       | 0.110 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup> | 0.83 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>        | 26.42 $\pm$ 4.76 <sup>c</sup>        | 166.74 $\pm$ 8.66 <sup>bc</sup>      | 84.24 $\pm$ 7.22 <sup>c</sup>        |
|                                  | 50% ethanol extract | 0.176 $\pm$ 0.007 <sup>a</sup> | 1.50 $\pm$ 0.13 <sup>c</sup>        | 42.86 $\pm$ 7.03 <sup>b</sup>        | 179.45 $\pm$ 15.23 <sup>b</sup>      | 104.96 $\pm$ 4.35 <sup>b</sup>       |
|                                  | 75% ethanol extract | 0.150 $\pm$ 0.014 <sup>b</sup> | 2.21 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>        | 59.26 $\pm$ 4.47 <sup>a</sup>        | 198.68 $\pm$ 8.90 <sup>a</sup>       | 126.35 $\pm$ 7.60 <sup>a</sup>       |
|                                  | 95% ethanol extract | 0.060 $\pm$ 0.002 <sup>d</sup> | 1.96 $\pm$ 0.18 <sup>b</sup>        | 57.25 $\pm$ 4.40 <sup>a</sup>        | 171.67 $\pm$ 8.60 <sup>b</sup>       | 130.89 $\pm$ 8.51 <sup>a</sup>       |

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-c</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

ยูจีนอล (728.30 ไมโครกรัมต่อกรัม) แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัด

จากการทดลองในครั้งนี้พบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่าที่สกัดออกมาได้มีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากความเป็นขั้วของตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ส่งผลให้องค์ประกอบทางเคมีที่สกัดออกมาได้มีความแตกต่างกัน (Jayaprakasha *et al.*, 2008) เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเปลี่ยนแปลงทำให้สมบัติทางกายภาพ (physical properties) เช่น ความหนาแน่น ความหนืด และค่าคงที่ไดอิเล็กตริก (dielectric constant) ของตัวทำละลายเกิดการเปลี่ยนแปลง (Juntachote *et al.*, 2006b) ซึ่งค่าดังกล่าวมีผลต่อการละลายของสารประกอบฟีนอลิกชนิดต่างๆ (Cacace and Mazza, 2003) ตัวทำละลายที่มีความหนืดน้อยมีอัตราการสกัดสูง เนื่องจากมีสัมประสิทธิ์การแพร่สูง (Gertenbach, 2002) Arts และ Hollman (1998) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของอะไกลโคไซด์ที่มีหมู่ไฮดรอกซิลสูงละลายได้ดีในเอทานอลและเมทานอล ส่วนตัวทำละลายที่มีขั้วน้อย เช่น เอทิลอะซิเตต อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม ใช้สำหรับสกัดสารที่ไม่มีขั้วและสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรูปของอะไกลโคไซด์ที่มีหมู่เมทอกซิลสูง และสารประกอบที่มีขั้วสูงสามารถสกัดออกมาโดยใช้ น้ำ (Lafka *et al.*, 2007) ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ที่มีขั้วน้อย เช่น ไอโซฟลาโวน ฟลาโวนิน เมธิลเลทฟลาโวน และฟลาโวนอล สามารถสกัดออกมาโดยใช้คลอโรฟอร์ม ไดคลอโรมีเทน ไดเอทิลอีเทอร์หรือเอทิลอะซิเตต ส่วนฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์และอะไกลโคไซด์ที่มีขั้วสูง สามารถสกัดออกมาโดยใช้แอลกอฮอล์หรือแอลกอฮอล์ผสมน้ำ เนื่องจากไกลโคไซด์เพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของฟลาโวนอยด์ (Marston and Hostettmann, 2006) นอกจากนี้การที่น้ำสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้น้อยอาจมีสาเหตุมาจาก (1) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก โดยเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวจะถูกทำลายเมื่อสกัดโดยใช้เมทานอล เอทานอลและอะซิโตน (González-Montelongo *et al.*, 2010) และ (2) สารออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในสารสกัดข่าด้วยน้ำอาจเกิดการสลายตัว เนื่องจากในขั้นตอนการระเหยสารสกัดโดยใช้ rotary evaporation สารสกัดด้วยน้ำใช้เวลาในการระเหยนาน (ประมาณ 2 ชั่วโมง) เมื่อเทียบกับสารสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้นต่างๆ (ประมาณ 15 นาที)

อย่างไรก็ตามมีรายงานหลายฉบับระบุว่าชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่พบในสารสกัดข่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวิธีการสกัด ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์ส่วนของข่าที่ใช้ เช่น ใบ ลำต้น เหง้าและราก (Jirovetz *et al.*, 2003) รวมทั้งลักษณะของภูมิประเทศและภูมิอากาศที่ใช้ในการปลูกข่าเป็นต้น (Daferera *et al.*, 2000; Baydar *et al.*, 2004)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่า (Table 20) พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชันหลักที่พบในข่า ซึ่งสอดคล้องกับการวิจัยหลายฉบับที่พบความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีนอลิกกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันในผลไม้ (Gao *et al.*, 2000; Jimenez-Escrig *et al.*, 2001) ผัก (Robards *et al.*, 1999; Pyo *et al.*, 2004) ธัญพืช (Velioglu *et al.*, 1998; Peterson *et al.*, 2001) เครื่องดื่มและอาหาร (Fogliano *et al.*, 1999; Saura-Calixto and Goni, 2006) และสมุนไพรที่ใช้ในการทำอาหาร (Zheng and Wang, 2001)

จากการทดลองเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าไม่มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากสารที่สกัดออกมาได้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นต่างๆ ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ โปรตีนและรงควัตถุอื่นๆ (Macheix *et al.*, 1990 อ้างโดย Sun and Ho, 2005)

Table 20. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude galangal extracts

|                                   | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | Solids content<br>(%/g dw.) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Total phenolic (g GAE/100 g dw.)  | 1.000                               | 0.861**                              | 0.651                                | 0.854**                              | 0.132                       |
| DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.861**                             | 1.000                                | 0.431                                | 0.795*                               | -0.205                      |
| ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.651                               | 0.431                                | 1.000                                | 0.449                                | 0.569                       |
| FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.854**                             | 0.795*                               | 0.449                                | 1.000                                | -0.037                      |
| Solids content (%/g dw.)          | 0.132                               | -0.205                               | 0.569                                | -0.037                               | 1.000                       |

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

### สารสกัดหยาบของตะไคร้

หลังจากระเหยสารสกัดไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยน้ำ มีพีเอชอยู่ในช่วง 4.67-4.88 ส่วนสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอช อยู่ในช่วง 5.31-5.53, 5.13-5.47 และ 5.51-5.82 ตามลำดับ (Table 22) การสกัดที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:5 ให้สารสกัดที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 มีปริมาณของตะไคร้ ซึ่งมีพีเอชเป็นกรดมากกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 สารสกัดที่ได้มีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^0$  อยู่ในช่วง 42.34-67.29, -1.76-9.18, 31.55-47.70, 31.56-48.55 และ 77.24-98.24 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสว่างของสีพบว่า สารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีค่าความสว่างของสีมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยน้ำ เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 ตามลำดับ โดยสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำมีลักษณะใส สีแดงก่อนไปทางสีเขียวเหลือง (พิจารณาจากค่า  $a^*$ ,  $b^*$  และ  $H^0$ ) ส่วนสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 มีสีแดงเหลือง (Figure 26) นอกจากนี้พบว่าการสกัดหยาบที่อัตราส่วนตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 ให้สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่างมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 21) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเจือจางมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ดังที่กล่าวมาแล้วในสารสกัดหยาบของข่า

สารสกัดหยาบของตะไคร้ที่ได้จากทุกระบบ มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.13-0.19 ต่อกรัมของตะไคร้แห้ง (Table 22) การสกัดที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 และ 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้คุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP (Table 22) ไม่แตกต่างกัน ( $p \geq 0.05$ ) แต่สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของตะไคร้ต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวอนุภาคของตะไคร้และตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกในตะไคร้แพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น นอกจากนี้การสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ดีที่สุด รองลงมาคือเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 95 และน้ำ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลอง

Table 21. Effect of extraction conditions on pH and color of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated

| Ratio of lemon grass<br>and solvent | Solvent             | pH                        | Color value               |                           |                           |                           |                           |
|-------------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                     |                     |                           | L*                        | a*                        | b*                        | C*                        | H°                        |
| 1:5                                 | Water extract       | 4.88 ± 0.006 <sup>g</sup> | 54.00 ± 0.03 <sup>d</sup> | 5.42 ± 0.02 <sup>c</sup>  | 41.07 ± 0.03 <sup>d</sup> | 41.43 ± 0.03 <sup>c</sup> | 82.48 ± 0.02 <sup>c</sup> |
|                                     | 50% ethanol extract | 5.31 ± 0.000 <sup>e</sup> | 52.81 ± 0.01 <sup>e</sup> | 9.06 ± 0.01 <sup>a</sup>  | 47.70 ± 0.06 <sup>a</sup> | 48.55 ± 0.06 <sup>a</sup> | 79.24 ± 0.01 <sup>g</sup> |
|                                     | 75% ethanol extract | 5.13 ± 0.000 <sup>f</sup> | 42.34 ± 0.01 <sup>g</sup> | 9.18 ± 0.07 <sup>a</sup>  | 40.53 ± 0.27 <sup>c</sup> | 41.55 ± 0.25 <sup>c</sup> | 77.24 ± 0.17 <sup>h</sup> |
|                                     | 95% ethanol extract | 5.51 ± 0.006 <sup>c</sup> | 57.22 ± 0.01 <sup>c</sup> | 1.12 ± 0.10 <sup>e</sup>  | 41.34 ± 0.24 <sup>c</sup> | 41.35 ± 0.24 <sup>c</sup> | 88.45 ± 0.15 <sup>c</sup> |
| 1:10                                | Water extract       | 4.67 ± 0.000 <sup>h</sup> | 64.46 ± 0.01 <sup>b</sup> | 0.70 ± 0.02 <sup>f</sup>  | 31.55 ± 0.11 <sup>g</sup> | 31.56 ± 0.11 <sup>f</sup> | 88.73 ± 0.04 <sup>b</sup> |
|                                     | 50% ethanol extract | 5.53 ± 0.000 <sup>b</sup> | 50.84 ± 0.04 <sup>f</sup> | 6.77 ± 0.14 <sup>b</sup>  | 43.33 ± 0.06 <sup>b</sup> | 43.85 ± 0.06 <sup>b</sup> | 81.11 ± 0.18 <sup>f</sup> |
|                                     | 75% ethanol extract | 5.47 ± 0.017 <sup>d</sup> | 54.02 ± 0.03 <sup>d</sup> | 3.88 ± 0.04 <sup>d</sup>  | 40.56 ± 0.12 <sup>e</sup> | 40.75 ± 0.12 <sup>d</sup> | 84.54 ± 0.06 <sup>d</sup> |
|                                     | 95% ethanol extract | 5.82 ± 0.006 <sup>a</sup> | 67.29 ± 0.03 <sup>a</sup> | -1.76 ± 0.03 <sup>g</sup> | 35.21 ± 0.05 <sup>f</sup> | 35.25 ± 0.05 <sup>e</sup> | 98.24 ± 0.03 <sup>a</sup> |

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-h</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

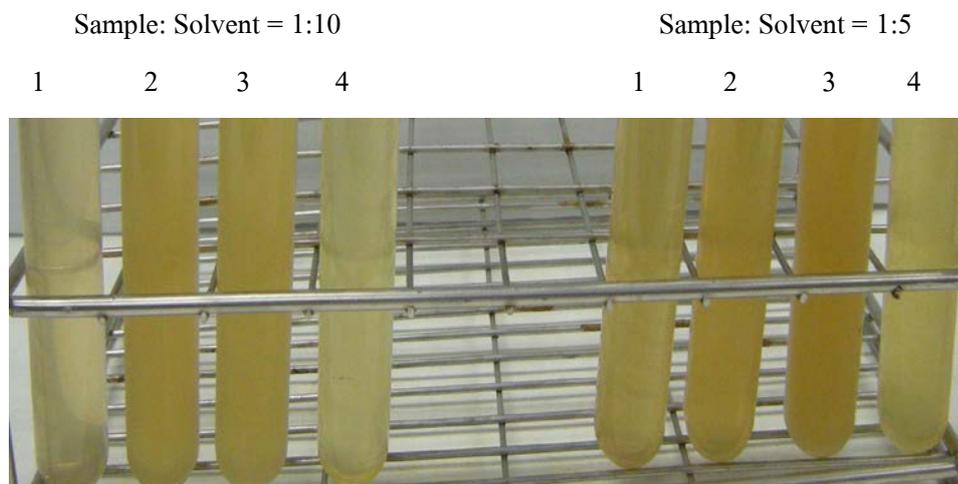


Figure 26. Appearance of crude lemon grass extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extract, 2 = 50% ethanolic crude extract, 3 = 75% ethanolic crude extract and 4 = 95% ethanolic crude extract

ของ Juntachote และคณะ (2006b) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดข่า ตะไคร้และโรสแมรี่ โดยวิธี RSM พบว่าอัตราส่วนของเอธานอลต่อน้ำ 3:1 ซึ่งเทียบได้กับเอธานอลความเข้มข้นประมาณร้อยละ 75 ทำให้สารสกัดตะไคร้มีปริมาณฟีนอลิกและรีดิวซ์ซึ่งพาวเวอร์สูงสุด Pereira และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอลและเอธานอล แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าสารสกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ชลดา กุลสถาพร และอมรทิพย์ สมสุข (2545) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของตะไคร้ โดยนำน้ำมันหอมระเหย สารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล และสารสกัดด้วยน้ำ มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดด้วยน้ำและสารสกัดด้วยเมธานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดี มี  $EC_{50}$  เท่ากับ 49.76 และ 52.59 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนน้ำมันหอมระเหยมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำมาก ( $EC_{50} > 100$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นอกจากนี้สามารถแยกสารบริสุทธิ์จากสารสกัดเมธานอล ได้ 1 ชนิดซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์คือ ลูทีโอลิน ซึ่งมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่า BHT 4 เท่า โดยลูทีโอลิน มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 5.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ BHT มีค่า  $EC_{50}$  เท่ากับ 17.68 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

Marques และ Farah (2009) ศึกษาปริมาณกรดโคโรจินิกซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชและมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน โดยใช้เทคนิค HPLC-UV และ LC-DAD-ESI-MS (liquid chromatography with diode array detection and electrospray ionisation mass spectrometry) พบว่าในสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 40 และ

Table 22. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts

| Ratio of lemon<br>grass and solvent | Solvent             | Solids content<br>(%/g dw.) | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) |
|-------------------------------------|---------------------|-----------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1:5                                 | Water extract       | $0.13 \pm 0.002^e$          | $0.35 \pm 0.017^d$                  | $5.70 \pm 0.55^d$                    | $19.60 \pm 1.34^d$                   | $11.25 \pm 1.11^d$                   |
|                                     | 50% ethanol extract | $0.16 \pm 0.003^c$          | $0.36 \pm 0.012^d$                  | $9.82 \pm 0.71^b$                    | $35.31 \pm 2.70^c$                   | $16.74 \pm 0.45^c$                   |
|                                     | 75% ethanol extract | $0.16 \pm 0.002^c$          | $0.46 \pm 0.011^b$                  | $14.29 \pm 1.35^a$                   | $45.46 \pm 1.73^a$                   | $19.90 \pm 1.08^a$                   |
|                                     | 95% ethanol extract | $0.15 \pm 0.003^d$          | $0.34 \pm 0.013^d$                  | $9.58 \pm 0.41^c$                    | $40.15 \pm 1.31^b$                   | $18.48 \pm 0.25^b$                   |
| 1:10                                | Water extract       | $0.19 \pm 0.001^a$          | $0.34 \pm 0.009^d$                  | $6.96 \pm 0.11^d^e$                  | $20.99 \pm 2.02^d$                   | $12.38 \pm 0.24^d$                   |
|                                     | 50% ethanol extract | $0.19 \pm 0.004^a$          | $0.43 \pm 0.019^c$                  | $11.27 \pm 1.36^b$                   | $39.20 \pm 1.22^b$                   | $18.60 \pm 0.14^b$                   |
|                                     | 75% ethanol extract | $0.18 \pm 0.001^b$          | $0.51 \pm 0.005^a$                  | $15.62 \pm 1.62^a$                   | $47.71 \pm 1.46^a$                   | $20.04 \pm 1.06^a$                   |
|                                     | 95% ethanol extract | $0.18 \pm 0.004^b$          | $0.50 \pm 0.004^a$                  | $7.90 \pm 0.89^{cd}$                 | $35.54 \pm 1.69^c$                   | $18.34 \pm 0.25^b$                   |

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of lemon grass

น้ำประกอบด้วยกรดคลอโรจีนิก ได้แก่ กรดคาเฟอิลอิลควินิก กรดฟีรูโลอิลควินิก และกรด ไดคาเฟอิลอิลควินิก แต่ไม่พบกรดคาเฟอิลและกรดแกลลิก ในขณะที่ Sacchetti และคณะ (2005) พบว่าน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ  $\beta$ -carotene bleaching โดยสารที่มีคุณสมบัติ ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันในน้ำมันหอมระเหยของตะไคร้คือซิทรอลไอโซเมอร์ (citral isomers) ได้แก่ นีรอล (neral) และเจอร์ราโนอัล (geranial) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Choi และคณะ (2000) พบว่าซิทรอลมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

Cheel และคณะ (2005) พบว่าการสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล ทำให้สารสกัดที่ได้ แสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ชูบเพอร์ออกไซด์แอนไอออนและยับยั้งเอนไซม์ แชนซินออกซิเดสและลิพิดเพอร์ออกซิเดชันในเม็ดเลือดแดงของมนุษย์ ได้ดีกว่าการสกัดด้วย เมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 70 และน้ำ โดยการแช่และการต้มเดือด สารที่สามารถแยกได้ จากสารสกัดด้วยเมธานอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสคอร์พาริน สเวอร์เทียจาพอนิน ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ ออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิก และกรด คาเฟอิลอิล ไอโซออเรียนทินและออเรียนทิน แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ( $IC_{50}$  มีค่าเท่ากับ 9-10 ไมโครโมลาร์) และยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 70 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนกรดคาเฟอิลและกรดคลอโรจีนิก แสดงสมบัติการกำจัดชูบเพอร์ออกไซด์แอนไอออน ( $IC_{50}$  มีค่าเท่ากับ 68.8 และ 54.2 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ) นอกจากนี้กรดคาเฟอิลยังสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเพอร์ออกซิเดชัน (ร้อยละ 85 ที่ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) Lean และ Mohamed (1999) พบว่าสาร สกัดตะไคร้ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 สามารถยืดอายุการเก็บรักษาบัตเตอร์เค้ก จาก 2 สัปดาห์เป็น 4 สัปดาห์ โดยสามารถยับยั้งการเพิ่มขึ้นของค่า TBA, เพอร์ออกไซด์และ อะนิซิดีน (anisidine)

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับปริมาณของแข็งและ สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของตะไคร้ (Table 23) พบว่าปริมาณฟีนอลิก ทั้งหมดไม่สัมพันธ์กับปริมาณของแข็งและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถใน การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ซึ่งแตกต่างจากสารสกัดหยาบของข่า สอดคล้องกับการทดลองของ Pereira และคณะ (2009) ซึ่งพบว่าคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบของตะไคร้ ไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดด้วย

Table 23. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude lemon grass extracts

|                                  | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | Solids content<br>(%/g dw.) |
|----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Total phenolic (g GAE/100 g dw.) | 1.000                               | 0.640                                | 0.658                                | 0.691                                | 0.448                       |
| DPPH ( $\mu$ mole TE/g dw.)      | 0.640                               | 1.000                                | 0.905**                              | 0.825*                               | 0.266                       |
| ABTS( $\mu$ mole TE/g dw.)       | 0.658                               | 0.905**                              | 1.000                                | 0.979**                              | 0.194                       |
| FRAP( $\mu$ mole TE/g dw.)       | 0.691                               | 0.825*                               | 0.979**                              | 1.000                                | 0.272                       |
| Solids content (%/g dw.)         | 0.448                               | 0.266                                | 0.194                                | 0.272                                | 1.000                       |

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of lemon grass

น้ำ ( $64.24 \pm 8.56$  มิลลิโมลสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของตะไคร้) มีค่าสูงกว่าสารสกัดด้วยเมธานอล ( $28.28 \pm 1.60$  มิลลิโมลสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของตะไคร้) อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่สารสกัดด้วยเมธานอลแสดงสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสารสกัดด้วยน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) อาจเป็นไปได้ว่าในสารสกัดตะไคร้มีสารอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกและแสดงสมบัติในการต้านออกซิเดชัน เช่น กรดอะมิโน กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอล และรงควัตถุ นอกจากนี้พบว่าการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้วิธี Folin-Ciocalteu reagent เป็นวิธีที่ไม่จำเพาะต่อสารประกอบฟีนอลิกเนื่องจากมีสารตั้งต้นอื่นๆที่สามารถรีดิวซ์ Folin reagent ได้ เช่น อะดีนีน (adenine) อะดีโนซีน (adenosine) อะลานีน (alanine) อะนิลีน (aniline) กรดอะมิโนเบนโซอิก (aminobenzoic acid) กรดแอสคอร์บิก เบนซาลดีไฮด์ (benzaldehyde) ครีเอทีนีน (creatinine) ซีสเทอีน (cysteine) ไซทิดีน (cytidine) ไซโทซีน (cytosine) ไดเมทิลอะนิลีน (dimethylaniline) ไดฟีนิลอะลามีน (diphenylamine) EDTA ฟรักโทส กัวนีน (guanine) กัวโนซีน (guanosine) ไกลซีน (glycine) ฮิสตามีน (histamine) ฮิสทีดีน (histidine) อินโดล (indole) เมทิลเอมีน (methylamine) กรดโอเลอิก โพรดีน ไพริดอกซิน (pyridoxine) ซูโครส (sucrose) กรดซัลฟานิลิก (sulfanilic acid) ไธมีน (thymine) ไธมิดีน (thymidine) ไตรเมทิลเอมีน (trimethylamine) ทริปโตเฟน (tryptophan) ยูราซิล (uracil) กรดยูริก และแซนทีน เป็นต้น (Prior *et al.*, 2005; Dordevic *et al.*, 2010) และจำนวนของหมู่ฟีนอลิกในโครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกตอบสนองต่อ Folin-Ciocalteu reagent แตกต่างกัน (Singleton *et al.*, 1999)

จากการทดลองในครั้งนี้เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธีการต่างๆพบความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดังแสดงใน Table 23

### สารสกัดหยาบของพริกขี้หนู

หลังจากกระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 พบว่าสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4.55 ส่วนสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.39-5.42, 5.62-5.79 และ 6.02-6.05 ตามลำดับ (Table 24) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารละลายที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากสารที่มีลักษณะเป็นกรดในพริกขี้หนู เช่น กรดแอสคอร์บิก สามารถละลายได้ดีในน้ำ ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข่า สารสกัดหยาบที่ได้มีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^0$  อยู่ในช่วง 29.50-44.43, 19.12-39.13, 40.26-69.41, 47.72-78.68 และ 57.11- 71.27 ตามลำดับ

Table 24. Effect of extraction condition on pH and color of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated

| Ratio of chili<br>and solvent | Solvent             | pH                        | Color                     |                           |                           |                           |                           |
|-------------------------------|---------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                               |                     |                           | L*                        | a*                        | b*                        | C*                        | H°                        |
| 1:5                           | Water extract       | 4.55 ± 0.006 <sup>g</sup> | 29.50 ± 0.09 <sup>h</sup> | 25.61 ± 0.06 <sup>d</sup> | 40.26 ± 0.26 <sup>g</sup> | 47.72 ± 0.20 <sup>g</sup> | 57.54 ± 0.21 <sup>g</sup> |
|                               | 50% ethanol extract | 5.42 ± 0.021 <sup>e</sup> | 32.64 ± 0.05 <sup>e</sup> | 22.23 ± 0.13 <sup>f</sup> | 43.16 ± 0.30 <sup>f</sup> | 48.55 ± 0.21 <sup>f</sup> | 62.75 ± 0.30 <sup>d</sup> |
|                               | 75% ethanol extract | 5.62 ± 0.000 <sup>d</sup> | 35.59 ± 0.02 <sup>g</sup> | 24.53 ± 0.04 <sup>e</sup> | 52.80 ± 0.36 <sup>d</sup> | 58.22 ± 0.32 <sup>d</sup> | 65.08 ± 0.17 <sup>c</sup> |
|                               | 95% ethanol extract | 6.02 ± 0.006 <sup>b</sup> | 39.69 ± 0.02 <sup>c</sup> | 39.13 ± 0.02 <sup>a</sup> | 63.42 ± 0.66 <sup>b</sup> | 74.52 ± 0.56 <sup>b</sup> | 58.33 ± 0.28 <sup>f</sup> |
| 1:10                          | Water extract       | 4.55 ± 0.006 <sup>g</sup> | 30.54 ± 0.15 <sup>f</sup> | 27.55 ± 0.05 <sup>c</sup> | 42.60 ± 0.16 <sup>f</sup> | 50.73 ± 0.16 <sup>e</sup> | 57.11 ± 0.06 <sup>h</sup> |
|                               | 50% ethanol extract | 5.39 ± 0.000 <sup>f</sup> | 38.02 ± 0.04 <sup>d</sup> | 19.12 ± 0.04 <sup>h</sup> | 46.87 ± 0.44 <sup>e</sup> | 50.62 ± 0.42 <sup>e</sup> | 67.81 ± 0.15 <sup>b</sup> |
|                               | 75% ethanol extract | 5.79 ± 0.006 <sup>c</sup> | 41.33 ± 0.02 <sup>b</sup> | 20.17 ± 0.02 <sup>g</sup> | 59.50 ± 0.78 <sup>c</sup> | 62.83 ± 0.73 <sup>c</sup> | 71.27 ± 0.24 <sup>a</sup> |
|                               | 95% ethanol extract | 6.05 ± 0.006 <sup>a</sup> | 44.43 ± 0.06 <sup>a</sup> | 37.05 ± 0.11 <sup>b</sup> | 69.41 ± 0.68 <sup>a</sup> | 78.68 ± 0.56 <sup>a</sup> | 61.90 ± 0.29 <sup>e</sup> |

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-g</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

สารสกัดหยาบของพริกขี้หนูในทุกระบบมีสีแดงเหลือง (Figure 27) สารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยน้ำมีสีแดงมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และ 75 (พิจารณาจากค่า  $H^0$ ) เมื่อพิจารณาความสว่าง ( $L^*$ ) และความบริสุทธิ์ของสี ( $C^*$ ) พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75, 50 และน้ำ การที่สารสกัดหยาบด้วยน้ำมีสีแดงมากและบริสุทธิ์น้อยอาจเนื่องมาจาก ในขณะที่สกัดสารจากพริกขี้หนูโดยการแช่เป็นเวลา 5 วัน พบว่าพริกขี้หนูมีลักษณะเปื่อยยุ่ย ส่งผลให้องค์ประกอบที่มีอยู่ในพริกขี้หนู เช่น แป้ง เม็ดสี ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอรูบิน แซนโทฟิลล์ เบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน แอนเธราแซนธิน ไวโอลาแซนธิน เบต้าคริบโตแซนธิน และอื่นๆหลุดออกมา แม้ว่าจะมีการกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แต่สารที่มีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า รูพรุนของกระดาษกรองก็สามารถผ่านออกมาได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 มีสีแดงมากที่สุด เมื่อเทียบกับสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 เนื่องจากมีการละลายของแคโรทีนอยด์ที่อยู่ในพริกออกมามาก

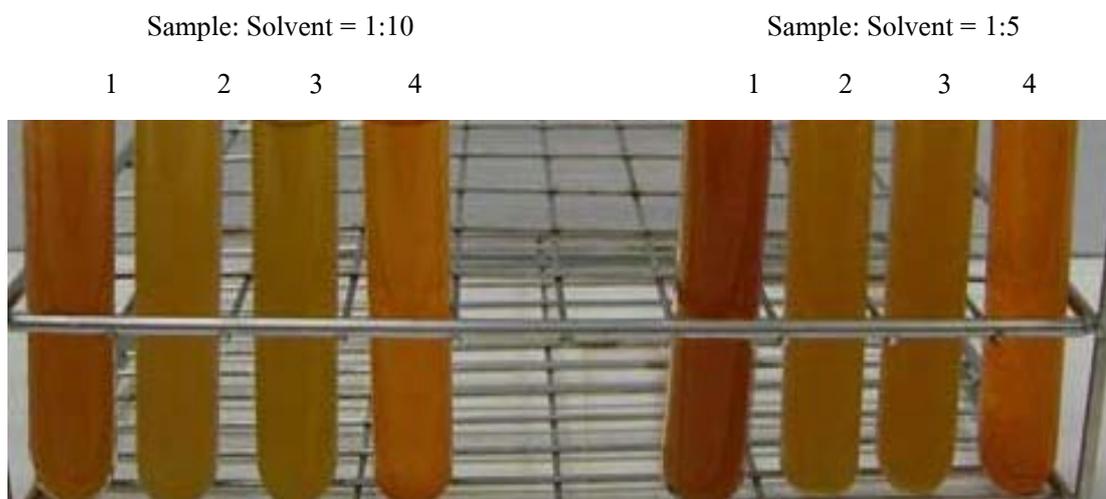


Figure 27. Appearance of crude chili extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

นอกจากนี้สารสกัดในทุกระบบมีปริมาณของแข็งร้อยละ 0.11-0.15 ต่อกรัมของพริกขี้หนูแห้ง (Table 25) การสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 ส่งผลให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าการสกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ สอดคล้องกับการทดลองของ Li-E และคณะ (2008) สกัดพริกโดยการแช่ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 45, 55, 65, 75, 85, 95 และน้ำ เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าผลผลิตที่ได้แตกต่างกันขึ้นอยู่กับ

Table 25. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts

| Ratio of chili and solvent | Solvent             | Solids content (%/g dw.)      | Total phenolic (g GAE/100 g dw.) | DPPH value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) | ABTS value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) | FRAP value ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) |
|----------------------------|---------------------|-------------------------------|----------------------------------|--|--|--|
| 1:5                        | Water extract       | 0.14 $\pm$ 0.003 <sup>b</sup> | 1.75 $\pm$ 0.12 <sup>ab</sup>    | 32.61 $\pm$ 0.08 <sup>e</sup>            | 236.25 $\pm$ 1.59 <sup>b</sup>           | 39.20 $\pm$ 2.10 <sup>e</sup>            |
|                            | 50% ethanol extract | 0.13 $\pm$ 0.002 <sup>b</sup> | 1.31 $\pm$ 0.18 <sup>c</sup>     | 35.53 $\pm$ 0.86 <sup>d</sup>            | 228.26 $\pm$ 5.82 <sup>b</sup>           | 39.50 $\pm$ 1.09 <sup>e</sup>            |
|                            | 75% ethanol extract | 0.13 $\pm$ 0.007 <sup>b</sup> | 1.70 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>     | 55.04 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>            | 217.97 $\pm$ 3.68 <sup>c</sup>           | 68.24 $\pm$ 3.17 <sup>b</sup>            |
|                            | 95% ethanol extract | 0.11 $\pm$ 0.003 <sup>c</sup> | 1.55 $\pm$ 0.10 <sup>b</sup>     | 54.72 $\pm$ 0.28 <sup>a</sup>            | 178.42 $\pm$ 5.31 <sup>e</sup>           | 65.28 $\pm$ 3.45 <sup>bc</sup>           |
| 1:10                       | Water extract       | 0.13 $\pm$ 0.002 <sup>b</sup> | 1.92 $\pm$ 0.10 <sup>a</sup>     | 36.82 $\pm$ 0.44 <sup>cd</sup>           | 256.32 $\pm$ 5.40 <sup>a</sup>           | 37.69 $\pm$ 1.93 <sup>e</sup>            |
|                            | 50% ethanol extract | 0.15 $\pm$ 0.006 <sup>a</sup> | 1.66 $\pm$ 0.12 <sup>b</sup>     | 39.23 $\pm$ 1.17 <sup>c</sup>            | 230.82 $\pm$ 3.63 <sup>b</sup>           | 53.71 $\pm$ 2.03 <sup>d</sup>            |
|                            | 75% ethanol extract | 0.15 $\pm$ 0.004 <sup>a</sup> | 1.68 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>     | 53.21 $\pm$ 1.55 <sup>a</sup>            | 211.33 $\pm$ 3.33 <sup>c</sup>           | 63.17 $\pm$ 4.25 <sup>c</sup>            |
|                            | 95% ethanol extract | 0.13 $\pm$ 0.005 <sup>b</sup> | 1.92 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>     | 48.88 $\pm$ 3.15 <sup>b</sup>            | 200.33 $\pm$ 7.24 <sup>d</sup>           | 77.97 $\pm$ 1.61 <sup>a</sup>            |

Mean $\pm$ SD from triplicate determinations

<sup>a-d</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

ความเข้มข้นของเอธานอล เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0-85 ผลผลิตที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่าลดลงเมื่อใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนของพริกชี้หนุต่อตัวทำละลายที่ใช้สกัด พบว่าสารสกัดหยาบของพริกชี้หนุที่อัตราส่วนของพริกชี้หนุต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ซึ่งลักษณะดังกล่าวเป็นไปในทำนองเดียวกับสารสกัดหยาบของข่าและตะไคร้ดังที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของพริกชี้หนุ (Table 25) โดยใช้ตัวทำละลายต่างๆ พบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และ 50 ซึ่งแตกต่างจากผลการทดลองในสารสกัดหยาบของข่าและตะไคร้ ที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูง เมื่อสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 สำหรับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าสารสกัดพริกชี้หนุด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุดรองลงมาคือสารสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และน้ำ ซึ่งตรงข้ามกับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบด้วยน้ำมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ดีที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 การที่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS แตกต่างกันเนื่องจาก DPPH เป็นสารที่ละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ จึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่มีความเป็นขั้วต่ำหรือมีคุณสมบัติชอบไขมัน ส่วน ABTS เป็นสารที่สามารถละลายได้ในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ ดังนั้นจึงสามารถวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระได้ทั้งสารที่มีคุณสมบัติชอบน้ำและชอบไขมัน (Wojdylo *et al.*, 2007) นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าสารสกัดเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และน้ำ

จากผลการทดลองในครั้งนี้มีความขัดแย้งกับการทดลองของ Wangcharoen และ Morasuk (2007a) ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในพริกชี้หนุแดง (*Capsicum frutescens* Linn.) ที่สกัดด้วยน้ำและเอธานอลความเข้มข้นต่างๆ (เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 19, 38, 57, 76 และ 95) โดยการผสมพริกชี้หนุแดงและตัวทำละลายในอัตราส่วน 1:5 นำไปเขย่าผสมโดยใช้วอร์เทกซ์ เป็นเวลา 60 วินาที แล้วกรองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 พบว่าการสกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 57 และ 76 ทำให้สารสกัดพริกชี้หนุแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าการสกัด

ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS พบว่าการสกัดพริกขี้หนูแดงด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 38, 57 และ 76 ทำให้ได้สารสกัดที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูง Li-E และคณะ (2008) ศึกษาผลของวิธีการสกัด 3 วิธี ได้แก่ การใช้ชอกเลท (soxhlet) การใช้อัลตราโซนิก (ultrasonic) และการแช่ ต่อสมบัตการต้านออกซิเดชันในสารสกัดพริก พบว่าการสกัดโดยการใช้อัลตราโซนิก ทำให้สกัดสารต้านออกซิเดชันในพริกได้ดีกว่าวิธีอื่น ประเสริฐ ประภานภสินธุ์ (2544) สกัดโพลีโอะเรซินจากพริกพันธุ์ CA364 ซึ่งเป็นพริกหยวก (*Capsicum annuum* L.) ด้วยอะซิโตน โดยใช้วิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 4 วิธี คือการสกัดโดยใช้เครื่องสกัดแบบชอกเลท การสกัดโดยการเขย่า การสกัดโดยการกวนและการสกัดแบบแช่ พบว่าปริมาณโพลีโอะเรซินที่สกัดได้มีค่าแตกต่างกัน ปริมาณโพลีโอะเรซินที่สกัดด้วยวิธีแช่มีปริมาณสูงสุดคือร้อยละ 17.24 ของน้ำหนักแห้ง การสกัดโดยวิธีการเขย่ามีปริมาณโพลีโอะเรซินน้อยที่สุดคือร้อยละ 11.66 ของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันในพริกอาจแตกต่างกันขึ้นอยู่กับ สายพันธุ์ ระยะเวลาสุก สภาพการเพาะปลูก ลักษณะของภูมิประเทศและ ภูมิอากาศ เป็นต้น (Osuna-Garcia *et al.*, 1998; Markus *et al.*, 1999 ; Daferera *et al.*, 2000; Baydar *et al.* 2004)

Wangcharoen และ Morasuk (2007a) พบว่าสารสกัดพริกขี้หนูแดงและเขียวมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันต่างกัน กล่าวคือพริกขี้หนูแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกขี้หนูเขียว แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบชนิดของพริกสองชนิดคือพริกขี้ฟ้าและพริกขี้หนูพบว่าสารสกัดพริกขี้ฟ้าสีแดงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าพริกขี้หนูแดงและเขียว แต่พริกขี้หนูแดงและเขียวมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกขี้ฟ้าแดง แสดงให้เห็นว่าพริกแต่ละสายพันธุ์ประกอบด้วยสารประกอบที่แตกต่างกัน ส่งผลให้ผลการทดสอบในแต่ละวิธีนั้นแตกต่างกัน นอกจากนี้ Materska และ Perucka (2005) พบว่าพริกหยวกแดง (hot pepper, *Capsicum annuum* L.) มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าพริกหยวกเขียว โดยสารประกอบหลักที่พบในพริกหยวกแดงคือ sinapoyl และ feruloyl glycosides ส่วนในพริกหยวกเขียวมีสารประกอบหลักคือ quercetin-3-O-L-rhamnoside Howard และคณะ (2000) พบว่าเมื่อพริกขี้หนู (*Capsicum frutescens*) สุก มีปริมาณแคโรทีนอยด์ (เบต้าคริปโทแซนธิน อัลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน และแคปแซนธิน) และวิตามินซีเพิ่มขึ้น แต่มีปริมาณของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและฟีนอลิกทั้งหมด

ไม่เปลี่ยนแปลง สารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในพริก ได้แก่ แคโรทีนอยด์ (Matsufuji *et al.*, 1998; Siripongvutikorn *et al.*, 2005) ฟลาโวนอยด์ (Lee *et al.*, 1995; Howard *et al.*, 2000; Iorizzi *et al.*, 2001; Mican and Mohamed, 2001; Materska *et al.*, 2003) วิตามินซีและอี (Palevitch and Craker, 1995; Daood *et al.*, 1996; Howard *et al.*, 2000; Ching and Mohamed, 2001) และแคปไซซินอยด์ (Materska *et al.*, 2003) Wangcharoen และ Morasuk (2007b) พบว่า พริกขี้หนู (*Capsicum frutescens* Linn.) และพริกขี้ฟ้า (*Capsicum annum* Linn. var. *acuminatum* Fingerh.) เป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่พบในธรรมชาติในอาหารไทย Mican และ Mohamed (2001) พบฟลาโวนอยด์ในพริกขี้หนู ได้แก่ ไมริซีน เควอร์ซีน และลูทีโอลิน ส่วน Materska และคณะ (2003) พบว่าสารสกัดพริกประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สารประกอบเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก (กรดทรานส์ฟูลิกและเอสเทอร์ของกรดทรานส์ซินาปิก) เควอร์ซีน ลูทีโอลินและอะพิจินิน ปกิต กำบุญมาและคณะ (ไม่ระบุปี) ทดสอบการต้านอนุมูลอิสระของอนุพันธ์แคปไซซินและไดไฮโดรแคปไซซิน พบว่าตำแหน่งพันธะคู่ไม่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระ การเปลี่ยนหมู่ฟีนอลิกไปเป็นอีเธอร์หรือเอสเทอร์ทำให้การต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งให้เห็นว่าหมู่ฟีนอลิกเป็นกลไกที่ควบคุมการต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ (Rice-Evans *et al.*, 1996; Rice-Evans *et al.*, 1997; Fukumoto and Mazza, 2000; Pulido *et al.*, 2000)

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 26) พบว่าปริมาณของแข็งไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชันซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Li-E และคณะ (2008) พบว่า ผลผลิตของสารสกัดพริกที่ได้ไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด กล่าวคือแม้ว่าการสกัดพริกโดยใช้การสกัดด้วยซอกเลท ทำให้สารสกัดที่ได้มีผลผลิตที่ได้สูงกว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิค และการแช่ แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิค มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าการสกัดโดยใช้ซอกเลทและการแช่

จากการทดลองในครั้งนี้เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่สัมพันธ์กับสมบัติการต้านออกซิเดชัน แต่พบความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติการต้านออกซิเดชันคือความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ซึ่งขัดแย้งกับการทดลองของ Wangcharoen และ Morasuk (2007a) แสดงให้เห็นว่าสารต้านออกซิเดชันในพริกประกอบด้วยสารหลายชนิด เช่น กรดแอสคอร์บิก โทโคฟีรอลและรงควัตถุ ซึ่งเป็นสารที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิกแต่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน

Table 26. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude chili extracts

|                                   | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | Solids content<br>(%/g dw.) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Total phenolic (g GAE/100 g dw.)  | 1.000                               | 0.054                                | 0.216                                | 0.237                                | 0.183                       |
| DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.054                               | 1.000                                | -0.773*                              | 0.870**                              | -0.228                      |
| ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.216                               | -0.773*                              | 1.000                                | -0.780*                              | 0.452                       |
| FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.237                               | 0.870**                              | -0.780*                              | 1.000                                | -0.103                      |
| Solids content (%/g dw.)          | 0.183                               | -0.228                               | 0.452                                | -0.103                               | 1.000                       |

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of chili

### สารสกัดหยาบของใบมะกรูด

หลังจากกระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 สารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.11-5.15 ส่วนสารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.31-5.33, 5.39-5.48 และ 5.66-5.84 ตามลำดับ (Table 28) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น พีเอชของสารสกัดหยาบที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับสารสกัดหยาบของข่าและพริกขี้หนู ดังที่ได้กล่าวไว้แล้วข้างต้น เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างใบมะกรูดและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดพบว่าที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และ 75 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10

สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่ได้ในทุกระบบมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^0$  อยู่ในช่วง 1.68-56.82, 2.46-10.69, 4.58-54.69, 2.87-54.77 และ 22.06-87.06 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีพบว่าเมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้น สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่างและความบริสุทธิ์ของสีน้อยลง สีของสารสกัดหยาบของใบมะกรูดเมื่อวัดโดยระบบ CIE  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  มีลักษณะเป็นสีแดงเหลือง (Table 26) ในขณะที่สารสกัดด้วยน้ำมีสีค่อนข้างเหลือง เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นสีจะมีค่าเข้าใกล้สีแดงมากขึ้น (พิจารณาจากค่า  $H^0$ ) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก (1) แคโรทีนอยด์ถูกสกัดได้เพิ่มมากขึ้น (2) โครงสร้างของคลอโรฟิลล์เอและบีถูกทำลายโดยเอธานอลเพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ความเป็นสีเขียวลดลง (Lee and Schwartz, 2005) ในพืชชั้นสูงประกอบด้วยคลอโรฟิลล์เอและบีในอัตราส่วน 3:1 (Hojnik *et al.*, 2007; Wilska-Jeszka, 2007) โดยคลอโรฟิลล์เอมีสีเขียวแกมน้ำเงิน และคลอโรฟิลล์บีมีสีเขียวแกมเหลือง และในโมเลกุลของคลอโรฟิลล์บีมีหมู่แอลดีไฮด์ แทนที่หมู่เมธิลที่ตำแหน่งที่ 3 ของคลอโรฟิลล์เอ หมู่แอลดีไฮด์เป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายน้ำได้ดี (Lee and Schwartz, 2005; Ferruzzi and Blakeslee, 2007) ทำให้สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่สกัดด้วยน้ำมีสีค่อนข้างเหลือง ส่วนแคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้มและสีแดง (Wilska-Jeszka, 2007) Siripongvutikorn และคณะ (2005) พบว่าใบมะกรูดในเครื่องคัมยามีปริมาณเบต้าแคโรทีนเท่ากับ  $173.60 \pm 61.45$  ไมโครกรัมต่อกรัมของตัวอย่าง ซึ่งสูงเป็นอันดับสองรองจากพริกขี้หนูแดง เมื่อพิจารณาผลของอัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลายพบว่าการสกัดที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:10 ทำให้สารสกัดหยาบที่ได้มีความสว่าง ( $L^*$ ) มากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 อย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 27) เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 มีความเข้มข้นน้อยกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 ดังนั้นสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 จึงสามารถสะท้อนแสงได้มากกว่าค่า  $L^*$  จึงมีค่า

Table 27. Effect of extraction conditions on pH and color of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated

| Ratio of kaffir lime leaves and solvent | Solvent             | pH                      | Color                   |                         |                         |                         |                         |
|---|---------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
|   |                     |                         | L*                      | a*                      | b*                      | C*                      | H°                      |
| 1:5                                     | Water extract       | 5.15±0.010 <sup>f</sup> | 39.45±0.10 <sup>b</sup> | 10.36±0.12 <sup>b</sup> | 51.65±0.46 <sup>b</sup> | 52.68±0.44 <sup>b</sup> | 78.65±0.19 <sup>b</sup> |
|   | 50% ethanol extract | 5.33±0.020 <sup>e</sup> | 20.62±0.13 <sup>d</sup> | 10.69±0.03 <sup>a</sup> | 30.13±0.41 <sup>d</sup> | 31.97±0.40 <sup>d</sup> | 70.47±0.03 <sup>d</sup> |
|   | 75% ethanol extract | 5.39±0.000 <sup>d</sup> | 3.98±0.06 <sup>f</sup>  | 3.92±0.08 <sup>d</sup>  | 4.58±0.06 <sup>f</sup>  | 6.03±0.00 <sup>f</sup>  | 49.48±0.92 <sup>f</sup> |
|   | 95% ethanol extract | 5.66±0.006 <sup>b</sup> | 1.68±0.10 <sup>h</sup>  | 2.46±0.18 <sup>f</sup>  | 1.47±0.01 <sup>g</sup>  | 2.87±0.15 <sup>g</sup>  | 30.93±2.09 <sup>g</sup> |
| 1:10                                    | Water extract       | 5.11±0.006 <sup>g</sup> | 56.82±0.06 <sup>a</sup> | 2.81±0.03 <sup>e</sup>  | 54.69±0.20 <sup>a</sup> | 54.77±0.20 <sup>a</sup> | 87.06±0.04 <sup>a</sup> |
|   | 50% ethanol extract | 5.31±0.006 <sup>e</sup> | 27.13±0.03 <sup>c</sup> | 10.36±0.10 <sup>b</sup> | 38.67±0.20 <sup>c</sup> | 40.03±0.21 <sup>c</sup> | 75.00±0.07 <sup>c</sup> |
|   | 75% ethanol extract | 5.48±0.010 <sup>c</sup> | 11.97±0.09 <sup>e</sup> | 7.63±0.19 <sup>c</sup>  | 16.99±0.44 <sup>e</sup> | 18.63±0.33 <sup>e</sup> | 65.79±1.07 <sup>e</sup> |
|   | 95% ethanol extract | 5.84±0.03 <sup>a</sup>  | 2.40±0.01 <sup>g</sup>  | 2.68±0.32 <sup>ef</sup> | 1.08±0.22 <sup>g</sup>  | 2.90±0.30 <sup>g</sup>  | 22.06±4.93 <sup>h</sup> |

Mean±SD from triplicate determinations

<sup>a-g</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

มากกว่า ลักษณะของสารสกัดหยาบของใบมะกรูด แสดงดัง Figure 25

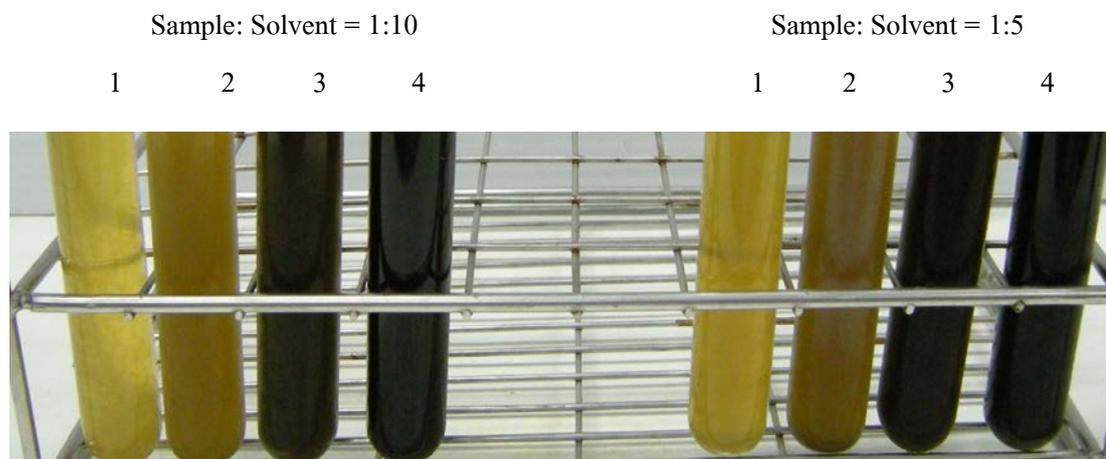


Figure 28. Appearance of crude kaffir lime leaf extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

สารสกัดหยาบของใบมะกรูดที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.07-0.20 ต่อกรัมของใบมะกรูดแห้ง (Table 28) สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของใบมะกรูดต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณของแข็งและสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวหน้าของใบมะกรูดและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารในใบมะกรูดแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ดังที่กล่าวมาแล้วในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้และพริกขี้หนู

จากการทดลองพบว่าสารสกัดหยาบของใบมะกรูดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้สมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ดีที่สุด (Table 28) และพบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นจนถึงร้อยละ 75 และมีค่าลดลงเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95 ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าสูงในสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 และน้ำ ซึ่งลักษณะดังกล่าวสอดคล้องกับสารสกัดหยาบของพริกขี้หนู

Hutadilok-Towatana และคณะ (2006) พบว่าสารสกัดใบมะกรูดและผิวมะกรูดด้วยเมธานอล มีคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลไฮดรอกซิลสูงที่สุด เมื่อเทียบกับว่านกีบแรด ใบบัวหลวง หญ้าพันงูเขียว เกสรบัวหลวง ปิบฝรั่ง สะพลู ผักเบี้ยใหญ่และเมล็ดบัวหลวง โดยมี

Table 28. Effect of extraction condition on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaf extracts

| Ratio of kaffir lime leaves<br>and solvent | Solvent             | Solids<br>content<br>(%/g dw.) | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) |
|--|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1:5  | Water extract       | $0.11 \pm 0.01^b$              | $0.84 \pm 0.18^a$                   | $5.60 \pm 0.77^f$                    | $53.81 \pm 2.22^a$                   | $46.06 \pm 0.93^c$                   |
|  | 50% ethanol extract | $0.11 \pm 0.01^b$              | $1.11 \pm 0.04^a$                   | $6.79 \pm 0.19^c$                    | $48.35 \pm 0.58^b$                   | $39.61 \pm 1.24^d$                   |
|  | 75% ethanol extract | $0.10 \pm 0.01^b$              | $1.18 \pm 0.29^a$                   | $11.33 \pm 0.45^c$                   | $50.83 \pm 2.08^b$                   | $54.37 \pm 1.78^a$                   |
|  | 95% ethanol extract | $0.07 \pm 0.01^b$              | $0.93 \pm 0.03^a$                   | $7.22 \pm 0.19^e$                    | $29.53 \pm 2.74^d$                   | $35.68 \pm 2.13^e$                   |
| 1:10                                       | Water extract       | $0.12 \pm 0.01^b$              | $0.94 \pm 0.48^a$                   | $9.84 \pm 0.12^d$                    | $54.95 \pm 0.43^a$                   | $48.95 \pm 1.76^{bc}$                |
|  | 50% ethanol extract | $0.20 \pm 0.10^a$              | $1.16 \pm 0.08^a$                   | $10.56 \pm 0.32^{cd}$                | $35.42 \pm 0.72^c$                   | $34.79 \pm 1.00^e$                   |
|  | 75% ethanol extract | $0.13 \pm 0.01^b$              | $1.19 \pm 0.11^a$                   | $14.34 \pm 0.42^a$                   | $56.00 \pm 2.01^a$                   | $51.94 \pm 3.31^{ab}$                |
|  | 95% ethanol extract | $0.10 \pm 0.01^b$              | $1.08 \pm 0.04^a$                   | $13.15 \pm 0.86^b$                   | $50.02 \pm 1.27^b$                   | $41.32 \pm 2.77^d$                   |

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference ( $p < 0.05$ )

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

IC<sub>50</sub> เท่ากับ 155 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 164 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ปรากฏว่า สารสกัดเมธานอลของใบมะกรูดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ  $8.19 \pm 0.40$  ไมโครโมลสมมูลย์ของคาเทชินต่อมิลลิกรัม มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH น้อย แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลไฮดรอกซิลสูง สามารถจับเฟอร์รัสได้ โดยมีร้อยละในการยับยั้งเท่ากับ  $6.89 \pm 1.05$  ที่ความเข้มข้น 0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยมีร้อยละของการยับยั้งเท่ากับ  $45.26 \pm 0.41$  ที่ความเข้มข้น 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงว่าสารสกัดใบมะกรูดมีสมบัติเป็นสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาถูกโซ่ คือกำจัดอนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระเพอร์ออกซิลทำให้อนุมูลเสถียรขึ้น (Shi *et al.*, 2001) Berhow และคณะ (1996) รายงานว่าสารสกัดจากใบมะกรูดประกอบด้วย ฟลาโวนอยด์ซึ่งเป็นสารที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน ได้แก่ ฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูทีนไกลโคไซด์ อิริซิทริน นิโออิริซิทริน นาริรูทีน เฮสเพอร์รีดิน นิโอเฮสเพอร์รีดิน และดิไดมิน และฟลาโวน/ออกติกไลโคไซด์ ได้แก่ รูทีน

จากการทดลองในสารสกัดหยาบของใบมะกรูด ไม่พบความสัมพันธ์ระหว่าง ปริมาณของแข็งกับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน และไม่พบความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 29) ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของตะไคร้และพริกขี้หนู แสดงให้เห็นว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของใบมะกรูดประกอบด้วยสารอื่นที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น คลอโรฟิลล์ เบต้าแคโรทีน กรดแอสคอร์บิก เป็นต้น Endo และคณะ (1985) พบว่าคลอโรฟิลล์ และอนุพันธ์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ Ferruzzi และคณะ (2002) พบว่าคุณสมบัติการต้านออกซิเดชันของคลอโรฟิลล์สามารถเปลี่ยนแปลงได้ขึ้นอยู่กับโครงสร้างโมเลกุลของคลอโรฟิลล์ โดยอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์จะสามารถกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ได้ดีกว่าอนุพันธ์ของคลอโรฟิลล์บี ส่วน Miller และคณะ (1996) พบว่าแคโรทีนอยด์สามารถกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ขึ้นอยู่กับหมู่ฟังก์ชัน และจำนวนของพันธะคู่แบบคอนจูเกต โดยพบว่าแคโรทีนมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ได้ดีกว่าแซนโทฟิลล์ เนื่องจากความเป็นขั้วที่เพิ่มขึ้นของหมู่ฟังก์ชันในวงแหวนส่วนปลาย

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของคุณสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีความสัมพันธ์กัน แสดงว่าสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันในใบมะกรูดเป็นได้ทั้งสารที่ละลายและไม่ละลายน้ำ และมีคุณสมบัติในการให้ไฮโดรเจนอะตอมและอิเล็กตรอน

Table 29. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude kaffir lime leaf extracts

|                                   | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | Solids content<br>(%/g dw.) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Total phenolic (g GAE/100 g dw.)  | 1.000                               | 0.703                                | 0.056                                | 0.165                                | 0.392                       |
| DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.703                               | 1.000                                | 0.288                                | 0.387                                | 0.210                       |
| ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.056                               | 0.288                                | 1.000                                | 0.807*                               | -0.063                      |
| FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.165                               | 0.387                                | 0.807*                               | 1.000                                | -0.214                      |
| Solids content (%/g dw.)          | 0.392                               | 0.210                                | -0.063                               | -0.214                               | 1.000                       |

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of kaffir lime leaves

### สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้า

เครื่องต้มข้า (ซึ่งเป็นสูตรที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1) ประกอบด้วยข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด ในอัตราส่วน ร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า หลังจากกระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้า ด้วยน้ำ มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 3.93-4.51 ส่วนสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าด้วยเอธานอล ความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 มีพีเอชเริ่มต้นอยู่ในช่วง 5.13-5.17, 5.27-5.48 และ 5.74-5.96 ตามลำดับ (Table 30) เมื่อความเข้มข้นของเอธานอลเพิ่มขึ้นพีเอชของสารละลายที่ได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข้า พริกขี้หนูและใบมะกรูด เมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนระหว่างเครื่องต้มข้าและตัวทำละลายพบว่าที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 ส่งผลให้สารสกัดหยาบที่ได้มีพีเอชต่ำกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด นอกจากนี้พบว่าสารสกัดเครื่องต้มข้าที่ได้ในทุกระบบมีค่า  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ,  $C^*$  และ  $H^0$  อยู่ในช่วง 31.80-54.13, 2.23-17.31, 26.32-64.95, 26.50-66.40 และ 69.34-86.03 ตามลำดับ โดยสารสกัดที่ได้มีลักษณะเป็นสีแดงเหลืองและมีสีแตกต่างกันดัง Figure 29 นอกจากนี้พบว่าสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าที่อัตราส่วนเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีความสว่างน้อยกว่าและมีสีแดงมากกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:10 เนื่องจากสารสกัดหยาบที่อัตราส่วนเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:5 มีความเข้มข้นมากกว่า

สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข้าที่ได้มีปริมาณของแข็งอยู่ในช่วงร้อยละ 0.11-0.15 ต่อกรัมของเครื่องต้มข้าแห้ง สารสกัดหยาบที่สกัดด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50, 75 และ 95 สกัดที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:10 และ 1:5 มีปริมาณของแข็งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) (Table 31) การใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 75 สกัดเครื่องต้มข้าทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณของแข็งสูงกว่าการใช้เอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และน้ำ

สารสกัดหยาบที่อัตราส่วนของเครื่องต้มข้าต่อตัวทำละลาย 1:10 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าของสารสกัดหยาบที่อัตราส่วน 1:5 เนื่องจากความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกที่ผิวของเครื่องต้มข้าและตัวทำละลายมีค่าเพิ่มขึ้น (Pinelo *et al.*, 2004b) ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างแพร่สู่ตัวทำละลายได้มากขึ้น ดังที่กล่าวไปแล้วในสารสกัดหยาบของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด

Table 30. Effect of extraction conditions on pH and color of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated

| Ratio of Tom-kha paste<br>and solvent | Solvent             | pH                         | Color                     |                           |                           |                           |                           |
|---------------------------------------|---------------------|----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|                                       |                     |                            | L*                        | a*                        | b*                        | C*                        | H <sup>o</sup>            |
| 1:5                                   | Water extract       | 4.51 ± 0.016 <sup>g</sup>  | 46.97 ± 0.04 <sup>d</sup> | 8.87 ± 0.05 <sup>d</sup>  | 31.95 ± 0.21 <sup>e</sup> | 33.16 ± 0.19 <sup>e</sup> | 74.48 ± 0.16 <sup>d</sup> |
|                                       | 50% ethanol extract | 5.13 ± 0.006 <sup>f</sup>  | 40.55 ± 0.01 <sup>e</sup> | 7.69 ± 0.16 <sup>e</sup>  | 36.48 ± 0.23 <sup>d</sup> | 37.28 ± 0.20 <sup>d</sup> | 78.09 ± 0.31 <sup>c</sup> |
|                                       | 75% ethanol extract | 5.27 ± 0.006 <sup>d</sup>  | 31.80 ± 0.10 <sup>h</sup> | 9.34 ± 0.15 <sup>c</sup>  | 32.10 ± 0.66 <sup>e</sup> | 33.43 ± 0.60 <sup>e</sup> | 73.76 ± 0.53 <sup>c</sup> |
|                                       | 95% ethanol extract | 5.74 ± 0.015 <sup>b</sup>  | 35.17 ± 0.07 <sup>g</sup> | 17.31 ± 0.13 <sup>a</sup> | 45.90 ± 0.48 <sup>b</sup> | 49.06 ± 0.45 <sup>b</sup> | 69.34 ± 0.23 <sup>f</sup> |
| 1:10                                  | Water extract       | 3.93 ± 0.000 <sup>h</sup>  | 54.13 ± 0.04 <sup>a</sup> | 3.07 ± 0.04 <sup>f</sup>  | 26.32 ± 0.04 <sup>f</sup> | 26.50 ± 0.03 <sup>g</sup> | 83.34 ± 0.09 <sup>b</sup> |
|                                       | 50% ethanol extract | 5.17 ± 0.0006 <sup>e</sup> | 53.48 ± 0.03 <sup>b</sup> | 2.23 ± 0.05 <sup>g</sup>  | 32.11 ± 0.08 <sup>e</sup> | 32.19 ± 0.08 <sup>f</sup> | 86.03 ± 0.09 <sup>a</sup> |
|                                       | 75% ethanol extract | 5.48 ± 0.000 <sup>c</sup>  | 39.57 ± 0.04 <sup>f</sup> | 9.36 ± 0.04 <sup>c</sup>  | 44.90 ± 0.12 <sup>c</sup> | 45.87 ± 0.12 <sup>c</sup> | 78.22 ± 0.04 <sup>c</sup> |
|                                       | 95% ethanol extract | 5.96 ± 0.040 <sup>a</sup>  | 47.48 ± 0.01 <sup>c</sup> | 13.78 ± 0.04 <sup>b</sup> | 64.95 ± 0.65 <sup>a</sup> | 66.40 ± 0.63 <sup>a</sup> | 78.02 ± 0.14 <sup>c</sup> |

Mean ± SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

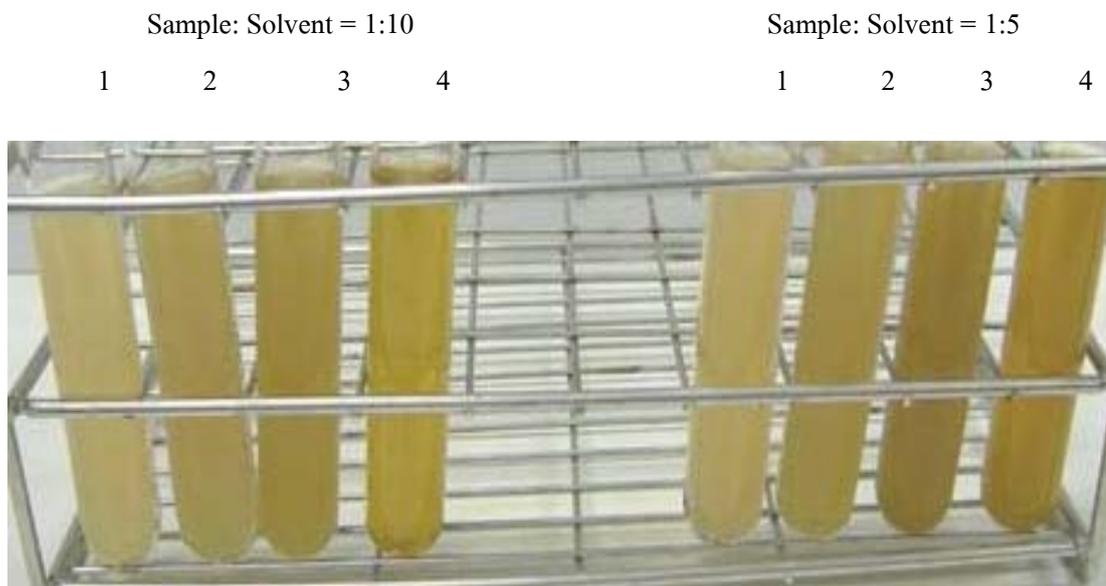


Figure 29. Appearance of crude Tom-kha paste extracts after 75% of extracts was evaporated

Remark: 1 = water crude extracts, 2 = 50% ethanolic crude extracts, 3 = 75% ethanolic crude extracts and 4 = 95% ethanolic crude extracts

เมื่อพิจารณาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มยำ พบว่ามีค่าแตกต่างกันขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและวิธีที่ใช้ในการทดสอบ กล่าวคือปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 75 และมีค่าคงที่เมื่อความเข้มข้นของเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 95 แสดงว่าสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มยำเป็นสารที่มีขั้วปานกลาง ส่วนสมบัติการต้านออกซิเดชันพบว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 แสดงคุณสมบัติในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS สูงกว่าสารสกัดหยาบด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95, 50 และน้ำ ส่วนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP มีค่าสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลมีค่าเพิ่มขึ้น แสดงว่าสารที่มีคุณสมบัติในการถ่ายโอนอิเล็กตรอนในสารสกัดหยาบของเครื่องต้มยำเป็นสารที่มีขั้วต่ำ การที่สมบัติการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธีการต่างๆมีค่าแตกต่างกัน เนื่องจากกลไกที่ใช้ในการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีมีลักษณะแตกต่างกัน

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็ง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าปริมาณของแข็งไม่สัมพันธ์กับปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Table 32) สอดคล้องกับการทดลองในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกชี้หนูและใบมะกรูด เนื่องจากสารที่สกัดออกมาได้จากเครื่องต้มยำด้วยเอทานอลความเข้มข้น

Table 31. Effect of extraction conditions on the solids content, total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

| Ratio of Tom-kha<br>paste and solvent | Solvent             | Solids content<br>(%/g dw.)    | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) |
|---------------------------------------|---------------------|--------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|
| 1:5                                   | Water extract       | 0.13 $\pm$ 0.006 <sup>bc</sup> | 0.26 $\pm$ 0.04 <sup>e</sup>        | 6.76 $\pm$ 0.33 <sup>h</sup>         | 54.02 $\pm$ 1.23 <sup>e</sup>        | 7.88 $\pm$ 0.65 <sup>g</sup>         |
|                                       | 50% ethanol extract | 0.14 $\pm$ 0.004 <sup>ab</sup> | 0.41 $\pm$ 0.04 <sup>c</sup>        | 13.77 $\pm$ 0.92 <sup>f</sup>        | 86.46 $\pm$ 1.43 <sup>c</sup>        | 16.64 $\pm$ 0.77 <sup>e</sup>        |
|                                       | 75% ethanol extract | 0.14 $\pm$ 0.000 <sup>a</sup>  | 0.57 $\pm$ 0.02 <sup>a</sup>        | 21.63 $\pm$ 0.67 <sup>c</sup>        | 93.46 $\pm$ 2.12 <sup>ab</sup>       | 21.07 $\pm$ 0.52 <sup>c</sup>        |
|                                       | 95% ethanol extract | 0.12 $\pm$ 0.004 <sup>c</sup>  | 0.59 $\pm$ 0.05 <sup>a</sup>        | 20.10 $\pm$ 0.39 <sup>d</sup>        | 94.25 $\pm$ 2.49 <sup>a</sup>        | 24.87 $\pm$ 0.59 <sup>a</sup>        |
| 1:10                                  | Water extract       | 0.11 $\pm$ 0.000 <sup>d</sup>  | 0.32 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>        | 10.67 $\pm$ 0.26 <sup>g</sup>        | 54.55 $\pm$ 1.22 <sup>e</sup>        | 3.96 $\pm$ 0.46 <sup>h</sup>         |
|                                       | 50% ethanol extract | 0.14 $\pm$ 0.002 <sup>ab</sup> | 0.49 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>        | 18.21 $\pm$ 0.12 <sup>e</sup>        | 79.12 $\pm$ 1.54 <sup>d</sup>        | 10.45 $\pm$ 0.68 <sup>f</sup>        |
|                                       | 75% ethanol extract | 0.15 $\pm$ 0.017 <sup>a</sup>  | 0.60 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>        | 27.57 $\pm$ 0.14 <sup>a</sup>        | 92.08 $\pm$ 0.38 <sup>ab</sup>       | 18.20 $\pm$ 0.79 <sup>d</sup>        |
|                                       | 95% ethanol extract | 0.12 $\pm$ 0.002 <sup>c</sup>  | 0.59 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>        | 24.48 $\pm$ 0.16 <sup>b</sup>        | 91.09 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>        | 22.99 $\pm$ 0.61 <sup>b</sup>        |

Mean  $\pm$  SD from triplicate determinations

<sup>a-f</sup> means within a column with the different letters are significantly difference (p<0.05)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

ต่างๆ ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก เช่น น้ำตาล กรดอินทรีย์ โปรตีนและรงควัตถุ (Macheix *et al.*, 1990 อ้างโดย Sun and Ho, 2005) เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP แสดงให้เห็นว่าสารที่มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันที่พบในเครื่องต้มข้าเป็นสารประกอบฟีนอลิก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข้า พบว่าข้าและพริกขี้หนูมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด รองลงมาคือใบมะกรูดและตะไคร้ และพบว่าข้ามีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP สูงที่สุด ส่วนพริกขี้หนูมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS สูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าพืชแต่ละชนิดประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน ส่งผลให้กลไกในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน ดังนั้นการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันในพืชจึงควรใช้วิธีในการทดสอบหลายวิธี (Wangcharoen and Morasuk, 2007a) เพื่อให้สามารถอธิบายสมบัติการต้านออกซิเดชันในพืชได้อย่างครอบคลุม

เมื่อนำเครื่องเทศ ได้แก่ ข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด บดผสมรวมกันเป็นเครื่องต้มข้า โดยมีสัดส่วนของข้า ตะไคร้ พริกขี้หนูและใบมะกรูด เท่ากับร้อยละ 41.84, 47.42, 8.25 และ 2.51 ตามลำดับ พบว่าเครื่องต้มข้ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตะไคร้ซึ่งเป็นองค์ประกอบหลัก และมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP ใกล้เคียงกับตะไคร้ ดังนั้นการทดลองในครั้งนี้ จึงให้เห็นว่าเครื่องต้มข้าประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันหลายชนิด การทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิด ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสมบัติการต้านออกซิเดชันซึ่งการทำปฏิกิริยากันของสารต้านออกซิเดชันทำให้เกิดผล 3 อย่างคือ (1) ทำให้เกิดผลในทางบวก (positive effect) (2) ทำให้เกิดการเสริมฤทธิ์ (synergic effect) และ (3) ทำให้เกิดผลในทางลบ (negative effect) Pinelo และคณะ (2004a) พบว่าสารผสมของเคอร์ซีทิน คาเทชิน และเรสเวอรัราโทรล (resveratrol) ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง เมื่อเทียบกับเคอร์ซีทิน คาเทชิน และเรสเวอรัราโทรลบริสุทธิ์ โดยความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เรียงลำดับได้ดังนี้ ระบบของสารผสม (complex system) < เคอร์ซีทิน

Table 32. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values, FRAP values and solids content from all crude Tom-kha paste extracts

|                                   | Total phenolic<br>(g GAE/100 g dw.) | DPPH value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | ABTS value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | FRAP value<br>( $\mu$ mole TE/g dw.) | Solids content<br>(%/g dw.) |
|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|--------------------------------------|-----------------------------|
| Total phenolic (g GAE/100 g dw.)  | 1.000                               | 0.961**                              | 0.926**                              | 0.851**                              | 0.502                       |
| DPPH value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.961**                             | 1.000                                | 0.856**                              | 0.746*                               | 0.532                       |
| ABTS value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.926**                             | 0.856**                              | 1.000                                | 0.921**                              | 0.569                       |
| FRAP value ( $\mu$ mole TE/g dw.) | 0.851**                             | 0.746*                               | 0.921**                              | 1.000                                | 0.262                       |
| Solids content (%/g dw.)          | 0.502                               | 0.532                                | 0.569                                | 0.262                                | 1.000                       |

\*\* Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed)

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed)

GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of Tom-kha paste

≤ เรสเวอร์ราโทรล < คาเทชิน ในขณะที่ Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการนำเครื่องเทศ มาผสมกัน ได้แก่ หอม (4 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (2 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับ กระเทียม (2 มิลลิกรัม) ทำให้เกิดการเพิ่มความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ของไขมัน เนื่องจากการเสริมฤทธิ์กันของสารต้านออกซิเดชันในหอมกับขิง และขิงกับกระเทียม แต่เมื่อนำหอม (8 มิลลิกรัม) ผสมกับขิง (4 มิลลิกรัม) ขิง (4 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (4 มิลลิกรัม) และขิง (2 มิลลิกรัม) ผสมกับกระเทียม (2 มิลลิกรัม) และหอม (4 มิลลิกรัม) กลับ พบว่าเกิดการลดความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน แสดงให้เห็นว่า สัดส่วนของเครื่องเทศที่นำมาผสมกันมีผลต่อการทำปฏิกิริยาของสารต้านออกซิเดชัน

### 3. ผลของอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันใน เครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำ

ผลจากการทดลองในขั้นตอนที่ 2 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเครื่องเทศ ที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มยำและเครื่องต้มยำคือ การสกัดที่อัตราส่วนของตัวอย่างต่อ ตัวทำละลาย 1:10 สกัดด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ดังนั้นจึงนำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มยำ ด้วยเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ที่อัตราส่วน ของตัวอย่างต่อตัวทำละลาย 1:10 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Figure 30-34) ดังนี้

#### สารสกัดหยาบของข่า

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°C เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของข่าคือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ซึ่งสอดคล้องกับการเพิ่มขึ้น ของความสามารถในการให้อิเล็กตรอนในระบบ FRAP และพบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 80-100°C ไม่มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS เปลี่ยนแปลง แต่อุณหภูมิ 70°C มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลง (Figure 30) การเพิ่มขึ้นของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเมื่อให้ความร้อนอาจเป็นผลมาจาก (1) ความร้อนทำให้ สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาลในรูปไกลโคไซด์เกิดการปลดปล่อยออกมา โดยการทำลาย พันธะไกลโคซิดิกของฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์เกิดเป็นฟลาโวนอยด์อิสระ ซึ่ง Hopia และ Heinonen (1999) และ Burda และ Oleszek (2001) รายงานว่าฟีนอลิกในรูปอิสระ (aglycone) มี

สมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าฟีนอลิกที่อยู่ในรูปที่จับกับน้ำตาล (glycosides) (2) ความร้อนอาจมีผลทำให้เกิดการปรับเปลี่ยน โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกจากเดิมให้กลายเป็น สารประกอบชนิดใหม่ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (Nicoli *et al.*, 1999) เช่น การเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของโมโนฟีนอลเกิดเป็นโอลิโกเมอร์ (oligomers) ซึ่งมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงกว่าโมโนฟีนอล เนื่องจากมีพื้นที่ในการเคลื่อนที่ของอิเล็กตรอนมากกว่า (Pinelo *et al.*, 2005)

ผลการทดลองในครั้งนี้สอดคล้องกับ Juntachote และ Berghofer (2005) ซึ่งนำสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ในรูปของสารสกัดแห้ง (dried ethanolic extract) ไปให้ความร้อนโดยใช้เตาอบ ที่อุณหภูมิ 80<sup>0</sup>ซ เป็นเวลา 30 และ 60 นาที มีสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิธี  $\beta$ -carotene beaching ไม่แตกต่าง ( $p \geq 0.05$ ) จากชุดควบคุม (ไม่ให้ความร้อน)

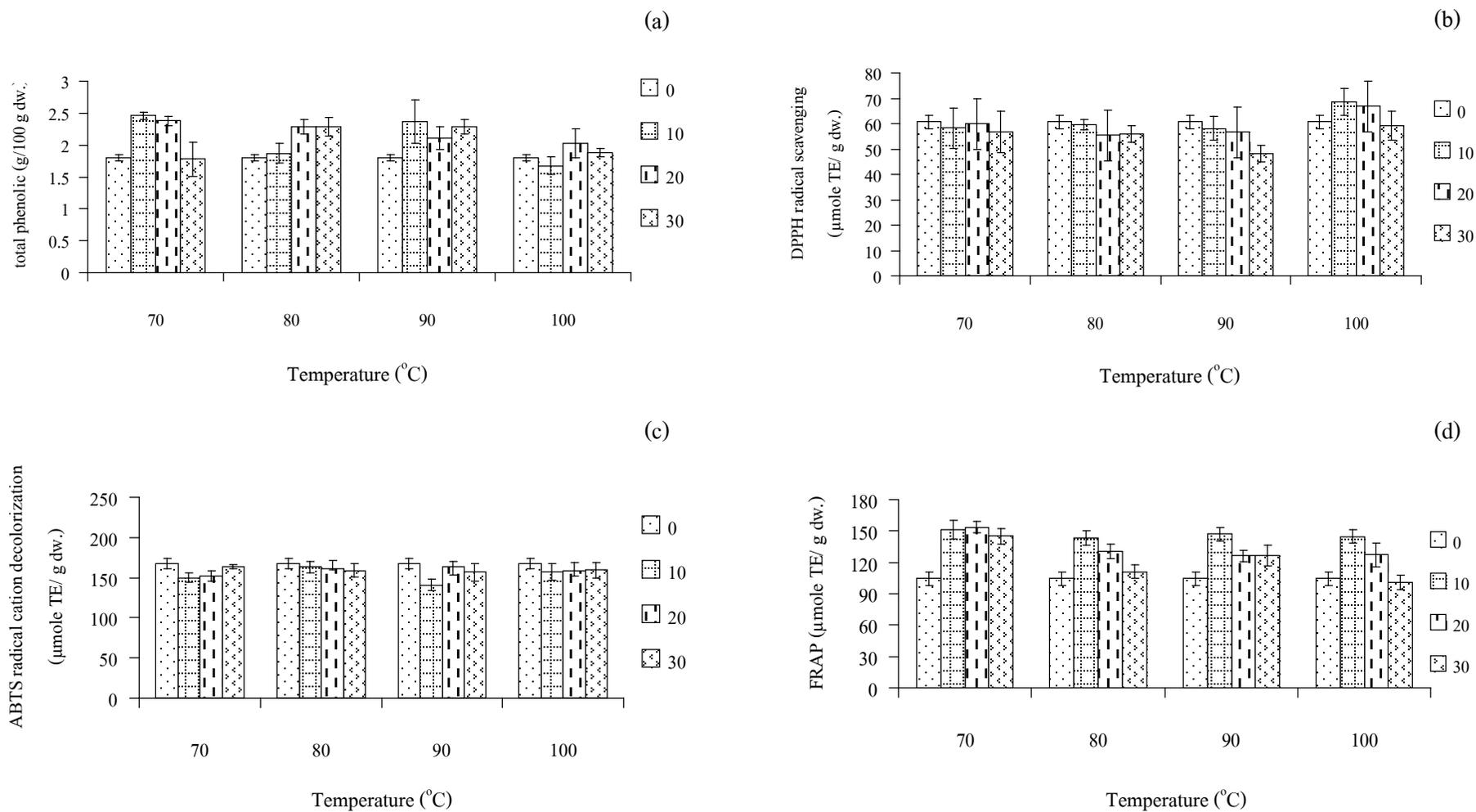


Figure 30. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents ( $\text{g/100 g dw.}$ ) (a), DPPH radical scavenging ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) (b), ABTS radical cation decolorization ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) (c) and FRAP ( $\mu\text{mole TE/g dw.}$ ) (d) of crude galangal extracts

Remark: GAE: Gallic acid equivalent, TE: Trolox equivalent, dw: dry weight of galangal

