สารสกัดหยาบของตะไคร้

เมื่อนำสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-100°ซ เป็นเวลา 0-30 นาที พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มคงที่ แต่พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มลดลง (Figure 31) การที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีค่าคงที่ อาจเนื่องมาจากความร้อนส่งผลให้สารต้านออกซิเดชันในสารสกัดตะไคร้เกิดการสูญสลายเท่าๆกับการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH แต่สารดังกล่าวอาจมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP น้อย (Nicoli *et al*., 1999)

Cheel และคณะ (2005) พบว่าสารสกัดตะไคร้ด้วยเมธานอล เมธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 และ 70 และน้ำ ประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสคอพาริน สเวอร์เทียจาโพนิน ไอโซออเรียนทิน-2-ออโตรามโนไซด์ ออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิคและกรดคาฟเฟอิค นอกจากนี้ความร้อนมีผลทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอลฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคามาริค กรดคาฟเฟอิค กรดฟีรูลิคและกรดซินาพิค ระเหยกลายเป็นไอได้ ในขณะที่ฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างเป็นวงแหวน 3 วงต่อกัน (C6-C3-C6) (Table 5) เกิดการแตกหักของวงแหวนซีและทำให้เกิดการสลายตัว โดยวงแหวนบีเปลี่ยนเป็นกรดคาร์บอกซิลิก (เช่น กรดเบนโซอิค) และวงแหวนเอจะเปลี่ยนเป็นคาร์บอกซีอัลดีไฮด์ (เช่น 2,4,6-trihydroxybenzaldehyde) ตามลำดับ (Jackman and Smith, 1996) และระเหยไปพร้อมกับไอน้ำ (Kim and Pratt, 1992)

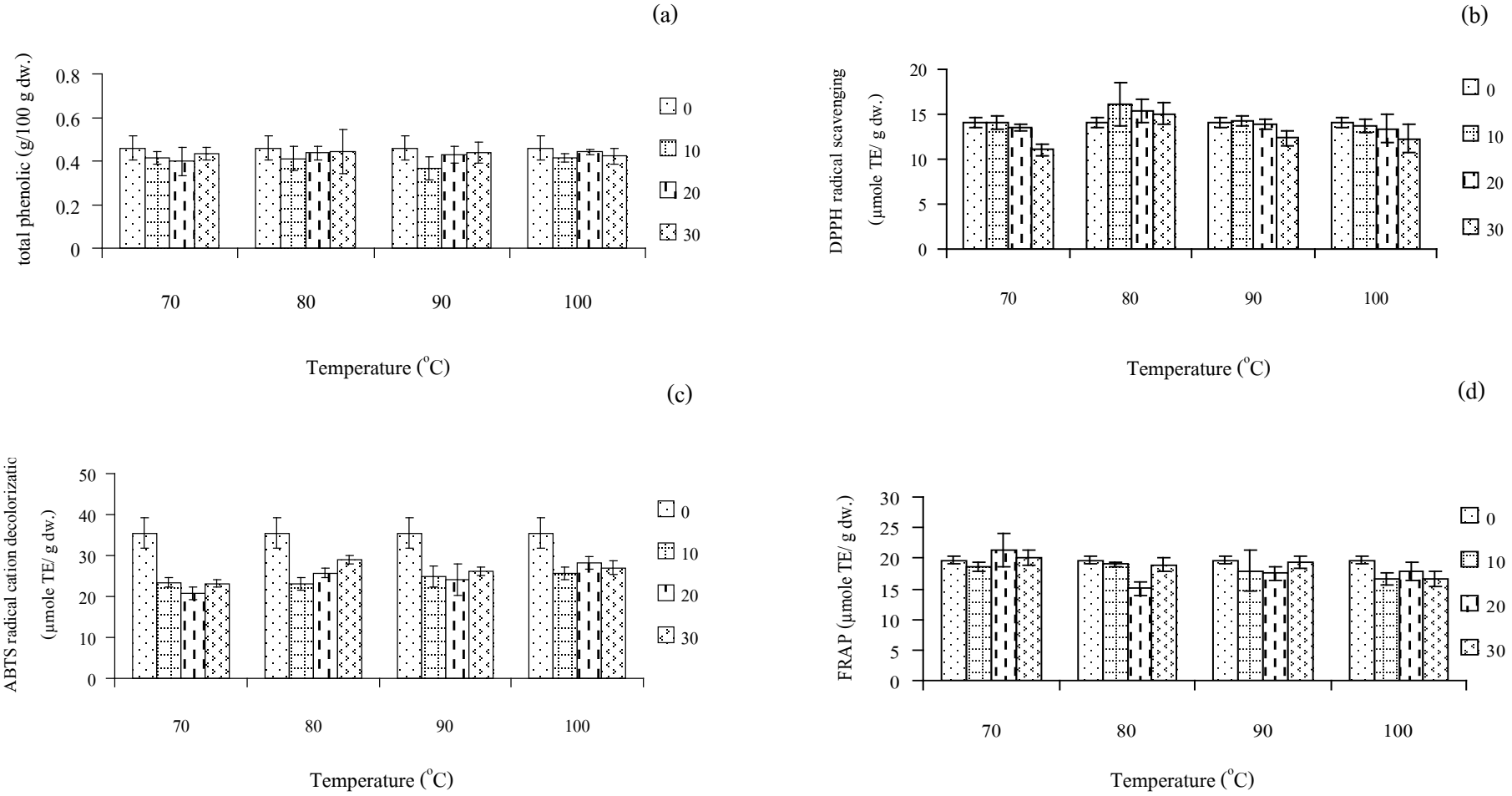


Figure 31. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw) (a), DPPH radical scavenging (µmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (µmole TE/g dw.) (c) and FRAP (µmole TE/g dw.) (d) of crude lemon grass extracts

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

สารสกัดหยาบของพริกขี้หนู

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของพริกขี้หนู เมื่อผ่านการให้ความร้อน (70, 80, 90 และ 100°ซ) ในระยะเวลาต่างๆ (10, 20 และ 30 นาที) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Figure 29) การลดลงของสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูอาจเกิดจาก (1) ความร้อนทำให้แคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอร์รูบิน คริปโทแซนธินและซีแซนธิน ซึ่งเป็นสารให้สีในพริกขี้หนูแดงและแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันถูกทำลายเนื่องจากสารดังกล่าวไม่ทนร้อน (Berke and Shieh, 2001) (2) ความร้อนทำให้ฟลาโวนอยด์เกิดการแตกหัก ส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันลดลงดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น Mieanและ Mohamed (2001) รายงานว่าพริกขี้หนูมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1663.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกขี้หนูแห้ง ซึ่งประกอบด้วยไมริซีทิน (236.0 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกขี้หนูแห้ง) เควอร์ซิทิน (392.0 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกขี้หนูแห้ง) และลูทีโอลิน (1035.0 ± 0.03 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของพริกขี้หนูแห้ง) และ (3) ความร้อนทำให้เกิดการสูญสลายของวิตามินซี (ascorbic acid) ที่เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในพริกขี้หนู (จงรักษ์ แก้วประสิทธิ์, 2552; Ching and Mohamed, 2001) โดยความร้อนไปกระตุ้นให้วิตามินซี เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิค ซึ่งเป็นสารที่ไม่แสดงกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และอนุมูลไฮดรอกซิล (Takamura *et al*., 2001 อ้างโดย Chuah *et al*., 2008) นอกจากนี้ กรดดีไฮโดรแอสคอร์บิคเป็นสารที่ไม่เสถียรและสามารถเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเป็นกรดไดคีโทกูโลนิค (2,3-diketogulonic acid) (Gregory, 1996) สอดคล้องกับการทดลองของ Chuah และคณะ (2008) พบว่าการให้ความร้อนแก่พริกหยวก (peppers, *Capsicum annum* L.) โดยใช้ไมโครเวฟ การทอดและการลวก ส่งผลให้ปริมาณวิตามินซีในพริกหยวกลดลง

Wancharoen และ Morasuk (2009) พบว่าเมื่อนำพริกขี้หนูแดงไปอบแห้งโดยใช้เครื่องอบแห้งแบบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70°ซ ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของพริกขี้หนูแดงมีค่าลดลง ส่วนความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง ($p\geq0.05$) แต่เมื่อให้ความร้อนที่ 100 และ 121°ซ พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ตลอดจนความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงที่ 420 นาโนเมตร และการเกิดสีน้ำตาลในพริกขี้หนูแดง แสดงให้เห็นว่าในขณะอบแห้งพริกขี้หนูที่

100 และ 121°ซ ทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลโดยไม่ใช้เอนไซม์ ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งมีสมบัติการต้านออกซิเดชัน เช่น เมลานอยด์ดิน (melanoidin)

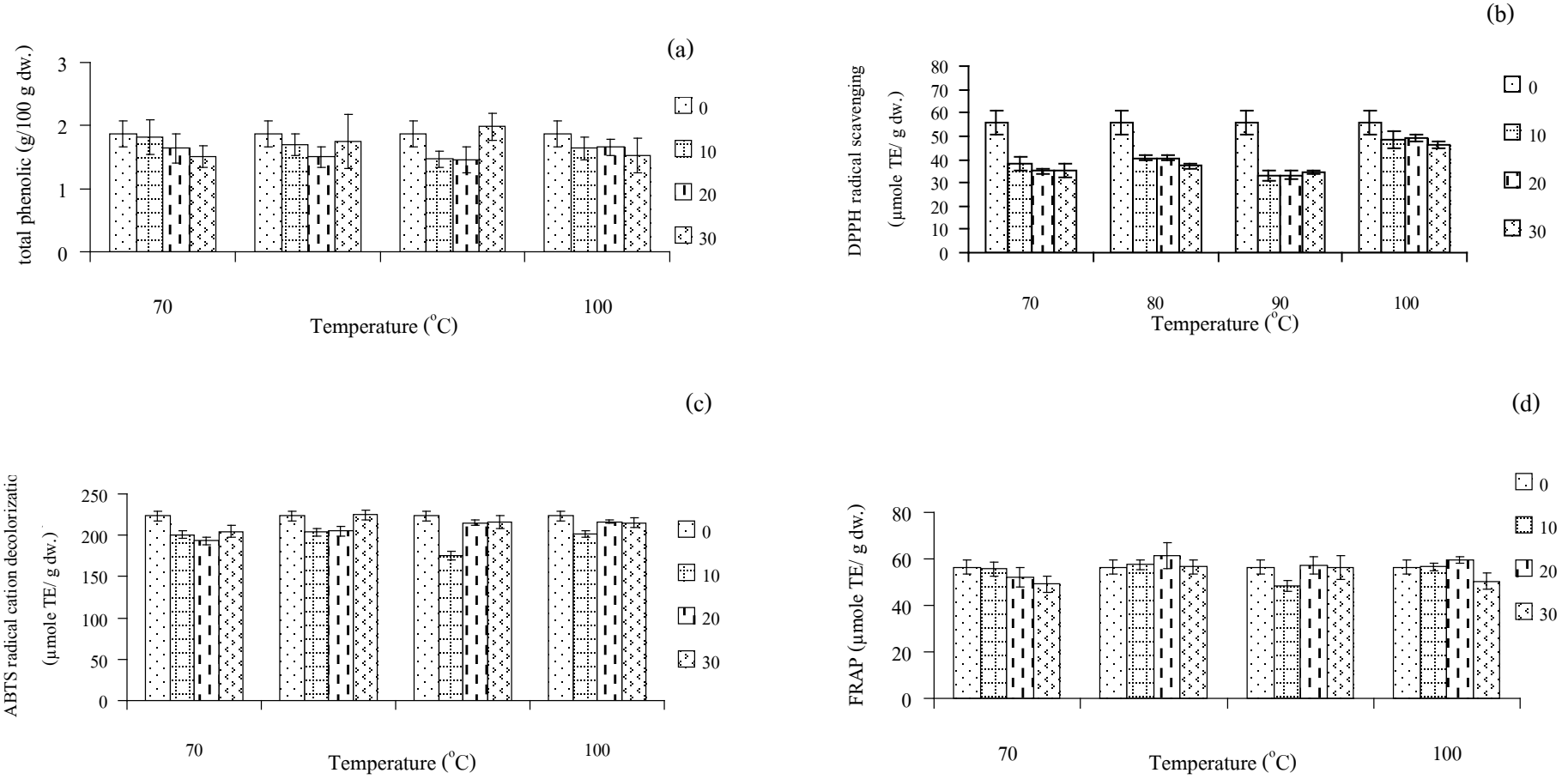


Figure 32. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/ 100 g dw.)(a), DPPH radical scavenging (µmole TE/g dw.)(b), ABTS radical cation decolorization (µmole TE/g dw.) (c) and FRAP (µmole TE/g dw.) (d) of crude chili extracts

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

สารสกัดหยาบของใบมะกรูด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ในสารสกัดหยาบของใบมะกรูดหลังการให้ความร้อน (70, 80, 90 และ 100°ซ) ในระยะเวลาต่างๆ (10, 20 และ 30 นาที) มีแนวโน้มลดลง ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Figure 33) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากความร้อนมีผลทำให้เกิดการสลายตัวของน้ำมันหอมระเหยและทำให้สารประกอบฟีนอลิกโมเลกุลเล็กๆ เช่น ฟีนอล ฟีนิลโพรพานอยด์ เช่น กรดพาราเคามาริค กรดคาฟเฟอิค กรดฟีรูลิคและกรดซินาพิค ระเหยกลายเป็นไอ (Jackman and Smith, 1996) ในขณะเดียวกันความร้อนทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมา โดยความร้อนทำให้พันธะไกลโคซิดิกของฟลาโวนอยด์ไกลโคไซด์สลายเกิดเป็นฟลาโวนอยด์อิสระตามที่ได้กล่าวไปแล้วข้างต้น Berhow และคณะ (1996) พบว่าใบมะกรูดประกอบด้วยฟลาโวนอยด์ ในรูปของฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่ นาริรูทินกลูโคไซด์ อีริซิทริน นีโออีริโอซิทริน นาริรูทิน เฮสเพอร์ริดิน นีโอเฮสเพอร์ริดินและดิไดมิน และฟลาโวน/ออลไกลโคไซด์ ได้แก่ รูทิน

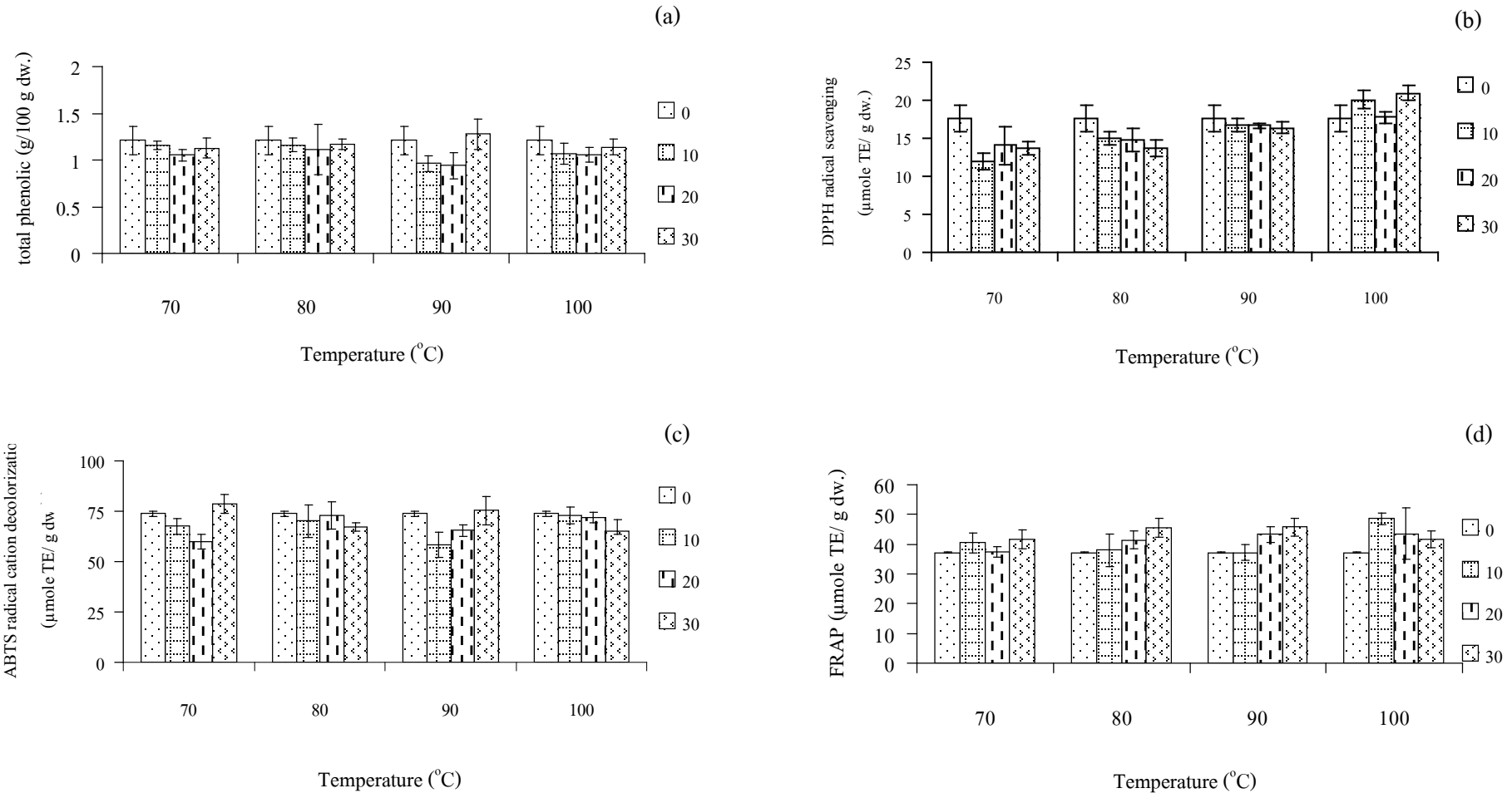


Figure 33. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw.) (a), DPPH radical scavenging (µmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (µmole TE/g dw.) (c) and FRAP (µmole TE/g dw.) (d) of crude kaffir lime leaf extracts

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

สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข่า

การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70, 80, 90 และ 100°ซ เป็นเวลา 10, 20 และ 30 นาที ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS ของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข่า มีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ส่วนความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-90°ซ แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 100°ซ พบว่าความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Figure 34)

ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองของนักวิทยาศาสตร์กลุ่มอื่นที่ทำงานในลักษณะที่ใกล้เคียงกัน อาจสรุปผลของความร้อนต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันได้ดังนี้ (1) สมบัติการต้านออกซิเดชันไม่เปลี่ยนแปลงเนื่องจากความร้อนส่งผลให้สารบางชนิดในพืช เกิดการสลายตัวเท่าๆกับการเกิดสารประกอบใหม่ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Nicoli *et al*., 1997) Arabshahi-Delouee และคณะ (2007) พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 15 นาที ไม่มีผลทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแครอทเกิดการเปลี่ยนแปลง (2) ความร้อนส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันสูงขึ้นโดยความร้อนทำให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกที่เกิดพันธะอยู่กับสารประกอบอื่นในรูปของพันธะเอสเทอร์ อีเธอร์หรืออะซีทอล (Robbins, 2003) หรืออยู่ในรูปของพันธะโควาเลนต์กับสารโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble polymer) (Peleg *et al*., 1991) Shobana และ Naidu (2000) พบว่าการให้ความร้อนแก่สารสกัดกระเทียม ขิง กานพลู อบเชยและพริกไทย ด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อุณหภูมิ 100°ซ เป็นเวลา 30 นาที ไม่เพียงแต่ทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันยังคงอยู่แต่พบว่าทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เนื่องจากในระหว่างการให้ความร้อนสารต้านออกซิเดชันที่จับกันอยู่เกิดการปลดปล่อยออกมา นอกจากนี้พบว่าความร้อนไปทำลายเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสและแอสคอร์เบทออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสูญสลายของโพลีฟีนอลและวิตามินซี (Yamaguchi *et al*., 2003) นอกจากนี้พบว่ากระบวนการให้ความร้อนทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่ใช่เอนไซม์ ได้แก่ ปฏิกิริยาเมลลาร์ดและคาราเมลไลเซชัน ซึ่งมีรายงานว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดและคาราเมล์ไลเซชันแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน (Manzocco *et al*., 2001; Yanagimoto *et al*., 2002; Benjakul *et al*., 2005; Yilmaz and Toledo, 2005; Osada and Shibamoto, 2006) และ (3) ความร้อนทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันลดลง โดยความร้อนทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารประกอบฟีนอลิก (Prasad *et al*., 1996; Crozier *et al*., 1997; Larrauri *et al*., 1997; Arbshahi-Delouee *et al*., 2007; Katsube *et al*., 2009) และวิตามินซี (Klimczak *et al*., 2007; Chuah *et al*., 2008)

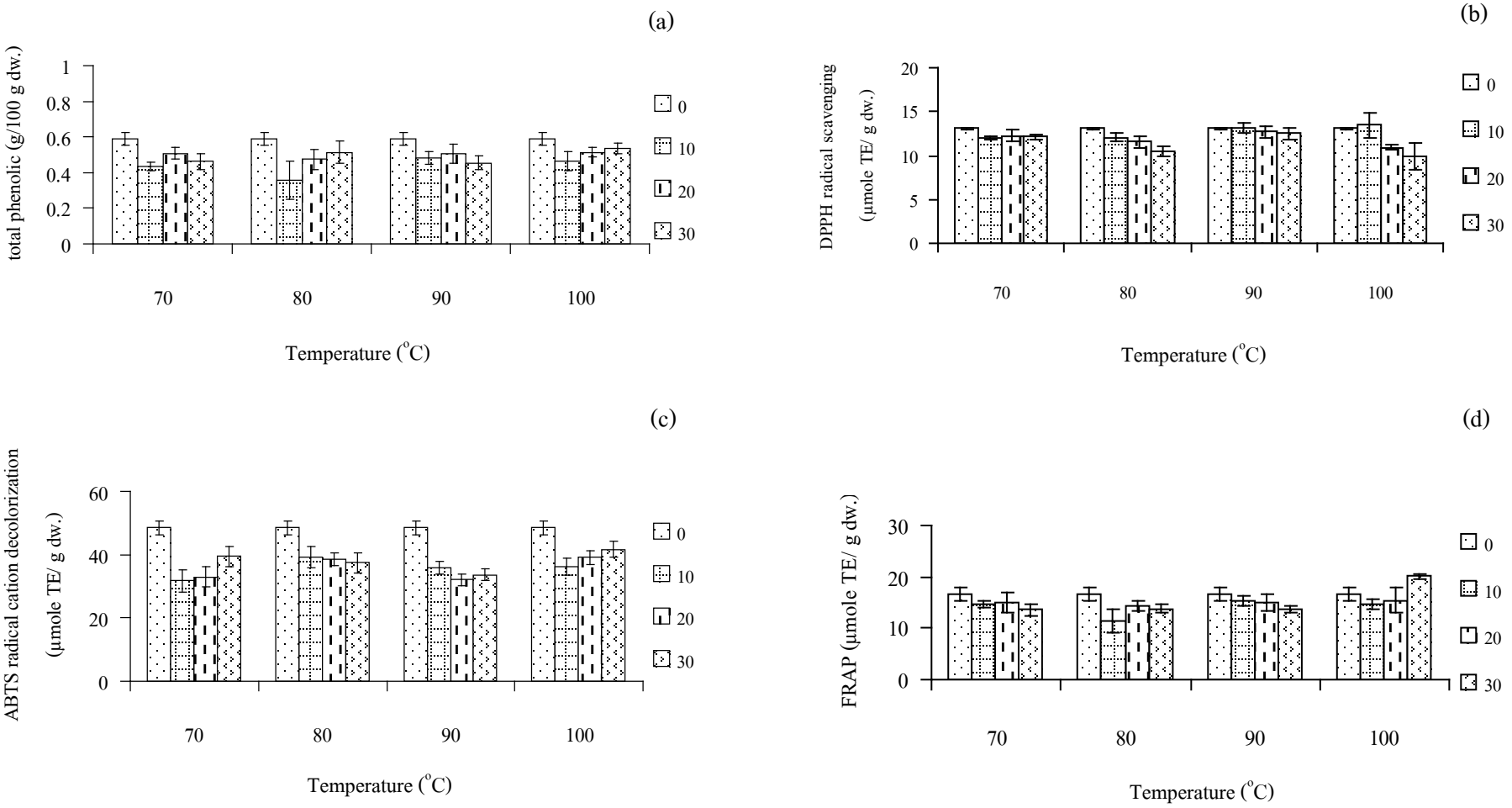


Figure 34. Effect of temperatures and heating times on the total phenolic contents (g/100 g dw.) (a), DPPH radical scavenging (µmole TE/g dw.) (b), ABTS radical cation decolorization (µmole TE/g dw.) (c) and FRAP (µmole TE/g dw.) (d) of crude Tom-kha paste extracts

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

โดยภาพรวมอาจกล่าวได้ว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องเทศที่ใช้เป็นส่วนประกอบในเครื่องต้มข่าขึ้นอยู่กับทั้งชนิดขององค์ประกอบ การให้ความร้อนและวิธีที่ใช้ในการทดสอบ ซึ่งเครื่องเทศแต่ละชนิดอาจมีสมบัติที่เหมือนหรือแตกต่างกันไป อย่างไรก็ตามผลการทดลองในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข่าเป็นเครื่องเทศที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด

4. ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่า

เมื่อนำสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด และเครื่องต้มข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 หลังจากระเหยสารสกัดออกไปร้อยละ 75 ไปปรับพีเอชเป็น 2, 5, 7, 8 และ 9 โดยใช้ 0.1 และ 1 N HCl และ 0.1 และ 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) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วปรับพีเอชให้กลับมาเท่ากับพีเอชเดิมของสารสกัด เพื่อศึกษาความคงตัวของสารสกัดต่อพีเอช พบว่าพีเอชมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูด และเครื่องต้มข่า (Table 33-37) ดังนี้

สารสกัดหยาบของข่า

ผลของพีเอชต่อความคงตัวของสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 แสดงดัง Table 33 จากการทดลองพบว่าในสภาวะที่เป็นกรดสูง (พีเอชเท่ากับ 2) ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) สัมพันธ์กับการเพิ่มขึ้นของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP เนื่องจากในสภาวะที่เป็นกรดทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นเกิดการปลดปล่อยออกมาอยู่ในรูปอิสระเพิ่มขึ้น (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005) เช่น การเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะกลูโคซิดิคของโพลีฟีนอล (Oreopoulou, 2003) แต่เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเท่ากับ 7 และ 8 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อพีเอชเพิ่มเป็น 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลง การลดลงของสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากที่พีเอชสูงๆ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนเป็นควิโนน และเรโซแนนท์อื่นๆ ที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันลดลง

และเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในสภาวะที่มีอากาศเกิดเป็นสารอนุพันธ์ของไดคีโตหรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ (degradation products) (Friedman and Jurgens, 2000) Krygier และคณะ (1982 อ้างโดย Naczk and Shahidi, 2006) พบว่าการย่อยโดยใช้ด่าง อาจทำให้เกิดการสลายตัวของอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีนนามิค (hydroxycinnamic acid derivatives) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของข่ามีความคงตัวในพีเอชที่เป็นกรด (พีเอช 2 และ 5) มากกว่าพีเอชที่เป็นด่าง (พีเอช 7 และ 8)

Juntachote และ Berghofer (2005) พบว่าสารสกัดข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีความคงตัวที่พีเอชเป็นกลางมากกว่ากรด โดยในสภาวะที่เป็นกลางข่าสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิค โดยวิธี β-carotene bleaching สูงกว่าในสภาวะที่เป็นกรด

Table 33. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude galangal extracts

pH	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
2	2.38 ± 0.18^{a}	57.80 ± 5.72^{c}	154.06 ± 6.34^{a}	135.78 ± 3.40^{a}
5	1.84 ± 0.06^{cd}	70.90 ± 2.53^{b}	138.92 ± 1.66^{b}	126.22 ± 5.06^{b}
5.15 (origin)	1.80 ± 0.05^{d}	68.80 ± 2.16^{b}	140.75 ± 1.91^{b}	125.41 ± 3.92^{b}
7	1.63 ± 0.05^{d}	59.76 ± 3.06^{c}	124.58 ± 3.68^{c}	114.45 ± 6.06^{c}
8	2.14 ± 0.32^{b}	61.93 ± 0.73^{c}	113.16 ± 4.09^{d}	95.88 ± 1.90^{d}
9	2.02 ± 0.16^{bc}	86.80 ± 1.54^{a}	81.83 ± 3.98^{e}	131.90 ± 5.20^{ab}

Mean ± SD from triplicate determinations

$^{a-e}$ 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

สารสกัดหยาบของตะไคร้

ผลการทดลองพบว่าการปรับพีเอชสารสกัดหยาบของตะไคร้เป็นพีเอช 2 ก่อนปรับพีเอชกลับมาที่พีเอช 5.55 ไม่มีผลต่อความคงตัวของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในสารสกัดหยาบของตะไคร้ด้วยเอธานอลความ

เข้มข้นร้อยละ 75 แต่มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7 และ 8 มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลง ในขณะที่ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตามเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 9 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน ทั้งความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 34) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของตะไคร้ไม่มีความคงตัวที่พีเอชสูงๆ (พีเอช 9)

Table 34. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude lemon grass extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
2	0.40 ± 0.02^{a}	16.39 ± 0.44^{ab}	26.97 ± 0.87^{c}	18.47 ± 0.98^{c}
5	0.40 ± 0.03^{a}	16.36 ± 0.57^{ab}	31.26 ± 0.61^{ab}	22.88 ± 2.20^{a}
5.55 (origin)	0.39 ± 0.02^{a}	16.67 ± 0.41^{a}	30.37 ± 0.55^{ab}	22.42 ± 0.58^{ab}
7	0.40 ± 0.02^{a}	15.57 ± 0.22^{b}	32.81 ± 1.89^{a}	21.72 ± 2.70^{ab}
8	0.38 ± 0.02^{a}	15.62 ± 0.63^{b}	29.54 ± 2.17^{bc}	19.63 ± 0.33^{bc}
9	0.27 ± 0.01^{b}	12.12 ± 0.13^{c}	22.75 ± 2.44^{d}	12.81 ± 0.34^{d}

Mean ± SD from triplicate determinations

$^{a-e}$ means within a column with the different letters are significantly difference ($p<0.05$)

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

สารสกัดหยาบของพริกขี้หนู

พีเอชมีผลต่อความคงตัวของสารสกัดหยาบของพริกขี้หนูด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 คือ ที่พีเอช 2 มีผลทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงแต่ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 35) ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าลดลง นอกจากนี้พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้

อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้น เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7-8 แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าลดลงเมื่อพีเอชเพิ่มเป็น 9 ดังแสดงใน Table 35

Table 35. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude chili extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
2	1.99 ± 0.32^{ab}	55.05 ± 0.38^{a}	193.83 ± 4.34^{c}	48.37 ± 3.29^{c}
5	1.84 ± 0.21^{bc}	49.79 ± 2.09^{b}	169.08 ± 1.41^{d}	54.42 ± 2.01^{b}
5.52 (origin)	1.86 ± 0.16^{bc}	49.33 ± 1.92^{b}	170.26 ± 3.18^{d}	56.70 ± 1.61^{b}
7	1.86 ± 0.18^{bc}	50.16 ± 4.45^{b}	227.42 ± 3.55^{a}	78.04 ± 4.54^{a}
8	2.27 ± 0.22^{a}	56.48 ± 2.85^{a}	205.38 ± 2.07^{b}	74.80 ± 3.34^{a}
9	1.51 ± 0.18^{c}	55.55 ± 0.43^{a}	156.58 ± 5.35^{e}	74.44 ± 1.23^{a}

Mean ± SD from triplicate determinations

$^{a-f}$ 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

สารสกัดหยาบของใบมะกรูด

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชเป็นกรด (พีเอช 2) โดยที่พีเอช 2 มีผลทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น (Table 36) เมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 7-8 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลงแต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีค่าเพิ่มขึ้น และเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 9 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าลดลง ในขณะที่ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP เพิ่มขึ้น (Table 36)

Table 36. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude kaffir lime leaf extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
2	1.25 ± 0.02^{a}	14.92 ± 0.39^{a}	64.89 ± 3.63^{b}	57.57 ± 1.36^{bc}
5	1.01 ± 0.07^{c}	11.52 ± 0.27^{b}	50.97 ± 2.43^{d}	56.67 ± 2.41^{bc}
5.30 (origin)	1.06 ± 0.08^{bc}	11.73 ± 0.23^{b}	52.90 ± 2.49^{cd}	54.70 ± 1.76^{c}
7	1.15 ± 0.01^{ab}	10.53 ± 0.64^{c}	69.98 ± 4.78^{a}	59.62 ± 1.72^{b}
8	1.15 ± 0.12^{ab}	10.26 ± 0.66^{cd}	62.63 ± 3.22^{b}	58.05 ± 3.27^{bc}
9	1.03 ± 0.04^{c}	9.63 ± 0.11^{d}	56.19 ± 1.58^{c}	64.86 ± 1.81^{a}

Mean ± SD from triplicate determinations

$^{a-e}$ 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

สารสกัดหยาบของเครื่องต้มข่า

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดเครื่องต้มข่ามีแนวโน้มลดลงเมื่อพีเอชเพิ่มขึ้น (Table 37) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข่ามีความคงตัวลดลงที่พีเอชสูงๆ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากองค์ประกอบหลักที่มีอยู่ในเครื่องต้มข่าคือ ตะไคร้ (ร้อยละ 47.42) และข่า (ร้อยละ 41.84) ไม่คงตัวที่พีเอชสูงๆ แต่ในสภาวะที่เป็นกรด สารสกัดหยาบของตะไคร้แสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดี ส่วนสารสกัดหยาบของข่าแสดงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ได้ดี ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่า เมื่อผู้บริโภครับประทานต้มข่าที่ผ่านการปรุง ซึ่งมีรสเปรี้ยว (พีเอชอยู่ในช่วง 4.51- 4.67) จะยังคงได้รับสารออกฤทธิ์ที่แสดงสมบัติการต้านออกซิเดชัน เนื่องจากความคงตัวของสารออกฤทธิ์ในสภาวะที่เป็นกรด ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

Table 37. Effect of pH on the total phenolic contents and antioxidant properties of crude Tom-kha paste extracts

pH	Total phenolic (g GAE /100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
2	0.41 ± 0.01^{a}	19.13 ± 0.44^{a}	47.28 ± 1.37^{a}	13.97 ± 0.74^{ab}
5	0.43 ± 0.02^{a}	17.78 ± 0.32^{b}	46.24 ± 1.36^{a}	14.02 ± 1.28^{ab}
5.18 (origin)	0.43 ± 0.02^{a}	17.55 ± 0.25^{b}	46.63 ± 0.58^{a}	14.68 ± 0.92^{a}
7	0.36 ± 0.01^{b}	12.77 ± 0.93^{c}	38.77 ± 0.36^{b}	11.55 ± 0.45^{c}
8	0.29 ± 0.01^{d}	11.49 ± 0.42^{d}	37.20 ± 0.53^{bc}	10.95 ± 1.28^{c}
9	0.33 ± 0.022^{c}	10.45 ± 0.85^{e}	36.55 ± 2.13^{c}	13.02 ± 0.91^{b}

Mean ± SD from triplicate determinations

$^{a-e}$ 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

จากการทดลองพบว่าพีเอชมีผลต่อความคงตัวของสมบัติการต้านออกซิเดชันในสารสกัดหยาบของข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู ใบมะกรูดและเครื่องต้มข่าแตกต่างกัน อาจเนื่องจากพืชแต่ละชนิดประกอบด้วยสารต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เช่น ในสารสกัดข่ามีอะซิโตซีชาวิคอลอะซีเทต คาเทชิน พาราเคามาริลไดอะซีเทต กรดปาล์มมิติคอะซิโตซียูจีนอลอะซิเตท เบต้าไบซาโบลีน และกรดโอเลอิค (Oonmetta-aree, 2005; Mahae and Chaiseri, 2009) ในตะไคร้มีฟลาโวนอยด์ (ไอโซออเรียนทิน ไอโซสคอพาริน สเวอร์เทียจาโพนิน ไอโซออเรียนทินออโตรามโนไซด์ และออเรียนทิน) กรดคลอโรจีนิคและกรดคาฟเฟอิค (Cheel *et al*., 2005) สารสกัดพริกมีแคปไซซิน กรดไฮดรอกซีเมทธิลเบนซีนอะซีติค กรดลิโนเลอิค กรดปาล์มมิติค กรดเพนตะเดคาโนอิค กรดปาล์มมิโตเลอิค กรดไมริสติค (Li-E *et al*., 2008) ซินาโพอิล เฟอร์รูโลอิลไกลโคไซด์ (Materska and Perucka, 2005) แคโรทีนอยด์ (เบต้าคริปโตแซนธิน อัลฟาแคโรทีน เบต้าแคโรทีน ซีแซนธิน แคปแซนธิน) (Howard *et al*., 2000) ฟลาโวนอยด์ (ไมริซีทิน เควอร์ซีทิน ลูทีโอลินและอะพิจีนิน) (Miean and Mohamed, 2001; Materska *et al*., 2003) วิตามินซีและอี (Howard *et al*., 2000; Ching and Mohamed, 2001) สารประกอบเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิค (กรดทรานฟีรูลิคและเอสเทอร์ของกรดทรานซินาพิค) ใบมะกรูดมีฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาโวนไกลโคไซด์ ได้แก่

นาริรูทินกลูโคไซด์ อีริซีทริน นีโออีริโอซิทริน นาริรูทิน เฮสเพอร์ริดิน นีโอเฮสเพอร์ริดิน และดิไดมิน และ ฟลาโวน/ออลไกลโคไซด์ ได้แก่ รูทิน (Berhow *et al*., 1996) และเบต้าแคโรทีน (Siripongvutikorn *et al*., 2005) ส่งผลให้สารสกัดมีสมบัติการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน (Arabshahi-Delouee *et al*., 2007)

5. การพัฒนาสูตรเครื่องต้มข่าให้มีสมบัติต้านออกซิเดชันสูง

จากการทดลองในขั้นตอนที่ 2, 3 และ 4 พบว่าข่าและพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงและมีความคงตัวต่ออุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนและพีเอช ดังนั้นจึงเลือกข่าและพริกขี้หนูมาใช้ในการพัฒนาสูตรเครื่องต้มข่า

5.1 การศึกษาอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูในเครื่องต้มข่า

เมื่อนำเครื่องต้มข่าที่ได้รับการคัดเลือกจากตอนที่ 1 มาศึกษาอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนู โดยใช้ชุดการทดลองแบบ augmented simplex-lattice (Montgomery, 2001) ได้สูตรการทดลองทั้งหมด 5 สูตร โดยเป็นสูตรที่ซ้ำกัน 3 สูตร รวมทั้งหมด 8 สูตร (Table 11) นำสูตรที่ได้ทั้งหมดมาทำเป็นเครื่องต้มข่า แล้วปรุงเป็นต้มข่ากุ้ง (วิธีการเตรียมแสดงดัง Figure 22) ก่อนนำน้ำซุปที่ได้ไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยวิธี 9-point hedonic scale ในด้านลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวม พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบน้ำซุปต้มข่ากุ้งในด้านกลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวมแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 38) โดยสูตรที่มีปริมาณพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบสูง (สูตรที่ 4 และ 5 มีพริกขี้หนูเป็นองค์ประกอบในสูตรร้อยละ 30) มีคะแนนการยอมรับในด้านของรสชาติและความชอบรวมต่ำกว่าสูตรที่มีปริมาณพริกขี้หนูน้อย (ปริมาณพริกขี้หนูในสูตรเรียงจากมากไปน้อยได้ดังนี้ สูตรที่ 4, 5 > 8 > 2, 7 > 3 > 1, 6) เนื่องจากในพริกขี้หนูมีแคปไซซินอยด์ ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดความเผ็ดร้อน ส่งผลให้สูตรที่มีปริมาณของพริกขี้หนูสูง มีความเผ็ดร้อนมากกว่าสูตรที่มีพริกขี้หนูน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อปริมาณของพริกขี้หนูเพิ่มขึ้น ผู้ทดสอบมีแนวโน้มในการให้คะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏและสีเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากในพริกขี้หนูมีสารประกอบแคโรทีนอยด์ ได้แก่ แคปแซนธิน แคปซอร์รูบิน และแซนโธฟิลล์ (สีแดง) และเบต้าแคโรทีน แคโรทีน และซีแซนธิน (สีเหลืองส้ม) (Ittah *et al*., 1993; Berke and Shieh, 2001) ซึ่งเป็นสารให้สีเหลืองแดง และสีดังกล่าวสามารถดึงดูดความสนใจของผู้บริโภคได้ดี (Schroder, 2003) นอกจากนี้พบว่าสูตรที่ 1 ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณข่าสูงสุด (ร้อยละ 45) มีคะแนนการยอมรับในด้านกลิ่นเครื่องเทศต่ำที่สุด เนื่องจากในข่ามีสารให้กลิ่นรสฉุนตามที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

Table 38. Sensory score of shrimp Tom-kha soup prepared from different Tom-kha paste formula evaluated with 30 panelist by 9-point hedonic scale

Formulation[†]	Attributes					
	Appearance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
1*	6.97 ± 1.25^{a}	7.13 ± 1.11^{a}	7.00 ± 0.98^{a}	6.87 ± 1.11^{b}	7.17 ± 0.87^{ab}	7.00 ± 0.87^{ab}
2**	7.40 ± 1.07^{a}	7.37 ± 1.03^{a}	7.27 ± 8.28^{a}	7.20 ± 0.85^{ab}	7.23 ± 1.01^{ab}	7.27 ± 0.87^{ab}
3	7.17 ± 1.05^{a}	7.30 ± 0.92^{a}	7.37 ± 0.85^{a}	7.40 ± 1.19^{ab}	6.93 ± 1.23^{abc}	7.15 ± 0.92^{ab}
4***	7.47 ± 0.94^{a}	7.57 ± 0.82^{a}	7.43 ± 1.17^{a}	7.40 ± 1.19^{ab}	6.27 ± 1.78^{c}	6.77 ± 1.48^{ab}
5***	7.57 ± 0.86^{a}	7.43 ± 1.10^{a}	6.87 ± 1.28^{a}	7.27 ± 1.31^{ab}	6.50 ± 1.87^{bc}	6.67 ± 1.69^{b}
6*	7.10 ± 1.00^{a}	7.30 ± 0.88^{a}	7.13 ± 0.97^{a}	7.23 ± 0.90^{ab}	6.90 ± 1.19^{abc}	6.93 ± 1.12^{ab}
7**	7.40 ± 1.10^{a}	7.17 ± 1.15^{a}	7.27 ± 0.83^{a}	7.23 ± 0.82^{ab}	7.47 ± 0.82^{a}	7.43 ± 0.90^{a}
8	7.43 ± 1.04^{a}	7.40 ± 1.00^{a}	7.10 ± 1.00^{a}	7.50 ± 1.04^{a}	6.67 ± 1.77^{bc}	6.77 ± 1.50^{ab}

[a-c], means within a column with the different letters are significantly difference ($p<0.05$)

*, **, *** Repeated formula

[†] Ingredient component (%) in each formulation was showed in table 11

เมื่อนำเครื่องต้มข่า 5 สูตร โดยเป็นสูตรที่ซ้ำกัน 3 สูตร รวมทั้งหมด 8 สูตร ไปวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน พบว่าเมื่อปริมาณข่าเพิ่มขึ้น ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Table 39) แต่ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง สอดคล้องกับการทดลองในขั้นตอนที่ 1 ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบของข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าสารสกัดหยาบของพริกขี้หนู แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่า โดยปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของข่า มีค่าเท่ากับ 2.21±0.06 กรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของข่าแห้ง 59.26±4.47 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของข่าแห้ง 198.68±8.90 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของข่าแห้ง และ 126.35±7.60 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของข่าแห้ง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดหยาบของพริกขี้หนู มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP เท่ากับ 1.68±0.07 กรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมของพริกขี้หนูแห้ง 53.21±1.55 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกขี้หนูแห้ง 211.33±3.33 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกขี้หนูแห้ง และ 63.17±4.25 ไมโครโมลสมมูลย์ของโทรลอกซ์ต่อกรัมของพริกขี้หนูแห้ง ตามลำดับ

Table 39. The total phenolic contents and antioxidant properties of various Tom-kha paste formulas

Formulation[†]	Total phenolic (g GAE/ 100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/ g dw.)	ABTS value (μmole TE/ g dw.)	FRAP value (μmole TE/ g dw.)
1*	0.64 ± 0.02^{ab}	17.68 ± 1.37^{b}	66.98 ± 2.68^{b}	27.56 ± 0.98^{a}
2**	0.55 ± 0.03^{c}	13.82 ± 0.36^{de}	51.81 ± 1.61^{e}	26.13 ± 4.11^{a}
3	0.66 ± 0.04^{a}	19.15 ± 0.92^{a}	58.32 ± 1.44^{cd}	24.69 ± 1.33^{a}
4***	0.46 ± 0.07^{d}	12.71 ± 0.31^{e}	114.01 ± 3.79^{a}	11.82 ± 1.02^{c}
5***	0.47 ± 0.02^{d}	12.45 ± 0.24^{e}	112.78 ± 5.28^{a}	12.85 ± 0.15^{bc}
6*	0.59 ± 0.04^{bc}	17.39 ± 0.52^{b}	58.98 ± 2.44^{cd}	25.18 ± 2.61^{a}
7**	0.59 ± 0.03^{bc}	15.48 ± 0.45^{c}	54.66 ± 2.73^{de}	25.43 ± 3.51^{a}
8	0.48 ± 0.03^{d}	14.41 ± 1.27^{cd}	61.66 ± 2.11^{c}	15.83 ± 0.69^{b}

[a-e] means within a column with the different letters are significantly difference ($p<0.05$)

Mean ± SD from hexaplicate determinations

*, **, *** Repeated formula

[†] Ingredient component (%) in each formulation was showed in table 11

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

5.2 การคัดเลือกสูตรที่เหมาะสม

เมื่อใช้โปรแกรม Design Expert version 7.0.3 (Stat-Ease, Inc., MN, USA) สร้างสมการแบบหุ่นจำลองและแผนภูมิคอนทัวร์ ซึ่งแสดงความสัมพันธ์ของอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูที่ใช้เป็นส่วนผสมของเครื่องต้มข่าที่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี ความข้นหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติและความชอบรวมของน้ำซุปต้มข่ากุ้ง และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของสารสกัดหยาบของเครื่องต้มข่าด้วยเอธานอลความเข้มข้นร้อยละ 75 ได้สมการจำลองดังแสดงใน Table 40 และแผนภูมิคอนทัวร์ในแต่ละปัจจัยดัง Figure 35-41 ซึ่งจะเห็นว่าสมการจำลองของลักษณะปรากฏ สี ความข้นหนืด กลิ่นเครื่องเทศ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เป็นแบบหุ่นเส้นตรง (Linear model) ส่วนสมการจำลองของ

รสชาติ ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP เป็นแบบหุ่นกำลังสอง (Quadratic model) และสมการจำลองของความชอบรวมเป็นแบบหุ่นกำลังสาม (Cubic model) ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) อยู่ในช่วง 0.0011-0.9553 และสมการจำลองคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี ความหนืด กลิ่นเครื่องเทศ รสชาติ ความชอบรวม ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีความเหมาะสม (Lake of fit, $p \geq 0.05$) แต่พบว่าข่าและพริกขี้หนูไม่มีอิทธิพลต่อความหนืดและกลิ่นเครื่องเทศของน้ำซุปต้มข่ากุ้ง ($p \geq 0.05$) ค่าสี ความหนืดและกลิ่นเครื่องเทศมีค่าสหสัมพันธ์ (R^2) น้อยกว่า 0.75 ดังนั้นสมการดังกล่าวจึงไม่เหมาะในการนำมาคาดคะเน โดยทั่วไปสมการที่มักนำไปใช้ควรมีค่าสหสัมพันธ์อย่างน้อยเท่ากับ 0.75 (Hu, 1999) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงนำสมการจำลองเฉพาะคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ รสชาติ ความชอบรวม ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มาใช้ในการคำนวณค่าตอบสนอง

เมื่อพิจารณาสมการจำลองในปัจจัยด้านคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ พบว่าปริมาณของพริกขี้หนูมีผลให้ค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏสูงกว่าข่า (ค่าสัมประสิทธิ์ของพริกขี้หนูในสมการจำลองค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏมีค่าสูงกว่าข่า โดยค่าสัมประสิทธิ์ของพริกขี้หนูและข่ามีค่าเท่ากับ 7.56 และ 7.07 ตามลำดับ) หรืออาจกล่าวได้ว่าพริกขี้หนูมีผลในทางที่ดีเนื่องจากมีผลทำให้ตัวอย่างมีลักษณะปรากฏที่ดี ในทางกลับกันพบว่าข่ามีผลให้ค่าตอบสนองด้านรสชาติและความชอบรวมสูงกว่าพริกขี้หนู และพบว่าอิทธิพลร่วมของข่าและพริกขี้หนูส่งผลให้ค่าตอบสนองในด้านรสชาติและความชอบรวมสูงขึ้น

Table 40. The predictive regression models and goodness-of-fit for sensory score of shrimp Tom-kha soup, total phenolic contents and antioxidant properties of Tom-kha paste with different galangal and chili content

Parameter	Regression models	R^2	Probability of model	Lack of fit (p)
Appearance[a]	7.07G+7.56C	0.8875	0.0005	0.3666
Color[a]	7.20G+7.47C	0.6042	0.0232	0.8480
Viscosity[a]	7.17G+7.19C	0.0011	0.9384	0.6953
Spices odor[a]	7.12G+7.40C	0.3358	0.1322	0.4191
Taste[a]	7.00G+6.36C+1.95GC	0.7453	0.0327	0.1830
Overall linking[a]	6.97G+6.73C+2.13GC-2.15(GC)(G-C)	0.9553	0.0037	0.4291
Total phenolic[b]	0.64G+0.47C	0.7934	0.0030	0.1831
DPPH[b]	18.12G+12.66C	0.7859	0.0034	0.1025
ABTS[b]	65.25G+110.81C-142.92GC	0.9450	0.0007	0.0551
FRAP[b]	26.27G+11.82C+19.57GC	0.9181	0.0019	0.0571

Remark: G; galangal and C; chili, *p*; probability level

[a] n = 30 panelists and [b] n = 6 samples

เมื่อพิจารณาสมการจำลองในปัจจัยด้านปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP พบว่าปริมาณของข่ามีผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP สูงกว่าพริกขี้หนู แต่มีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ต่ำกว่า และพบว่าอิทธิพลร่วมของข่าและพริกขี้หนูส่งผลให้ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP สูงขึ้น แต่ทำให้ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ลดลง

การคัดเลือกอัตราส่วนของข่าและพริกขี้หนูจึงพิจารณาจากค่าตอบสนองด้านลักษณะปรากฏ รสชาติและความชอบรวมที่มีคะแนนมากกว่าหรือเท่ากับ 7 และทำให้เครื่องต้มข่ามีค่าตอบสนองในด้านปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันในรูปของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP สูงที่สุด ซึ่งสูตรการทดลองที่เหมาะสมที่สุดจากโปรแกรม Design

Expert version 7.0.3 คือสูตรที่ประกอบด้วยข่าและพริกขี้หนูในอัตราส่วนเท่ากับร้อยละ 82.86 และ 17.14 ตามลำดับ (Figure 35-41) หรือเป็นสูตรเครื่องต้มข่าที่ประกอบด้วยข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูดเท่ากับร้อยละ 41.43, 47.00, 8.57 และ 3.00 ตามลำดับ

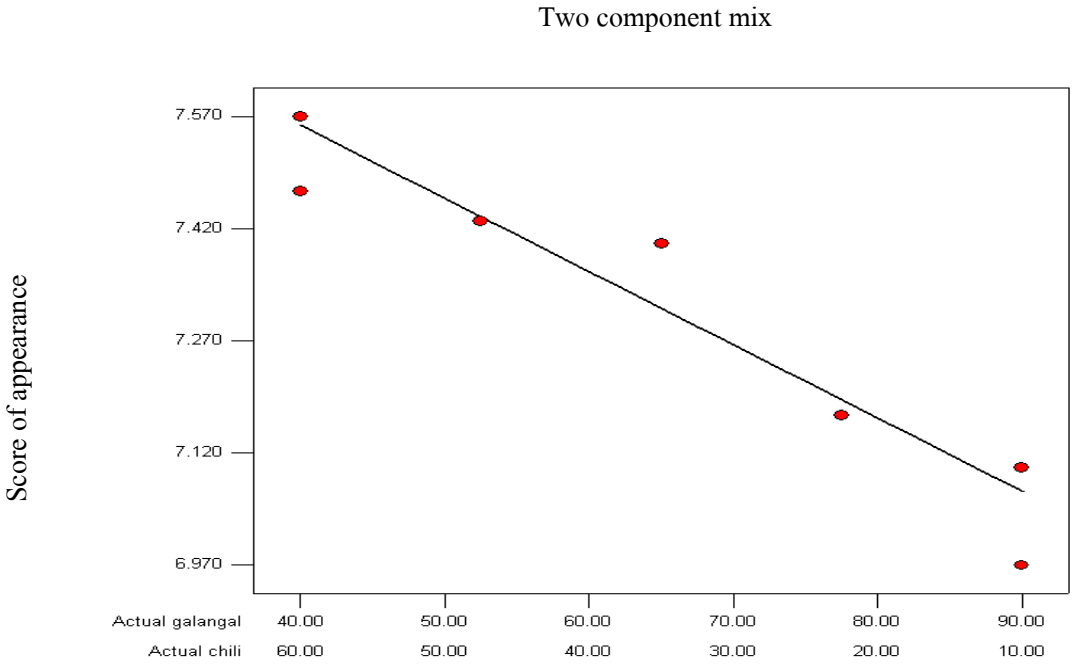


Figure 35. Contour plot of predicted appearance scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 30 panelists

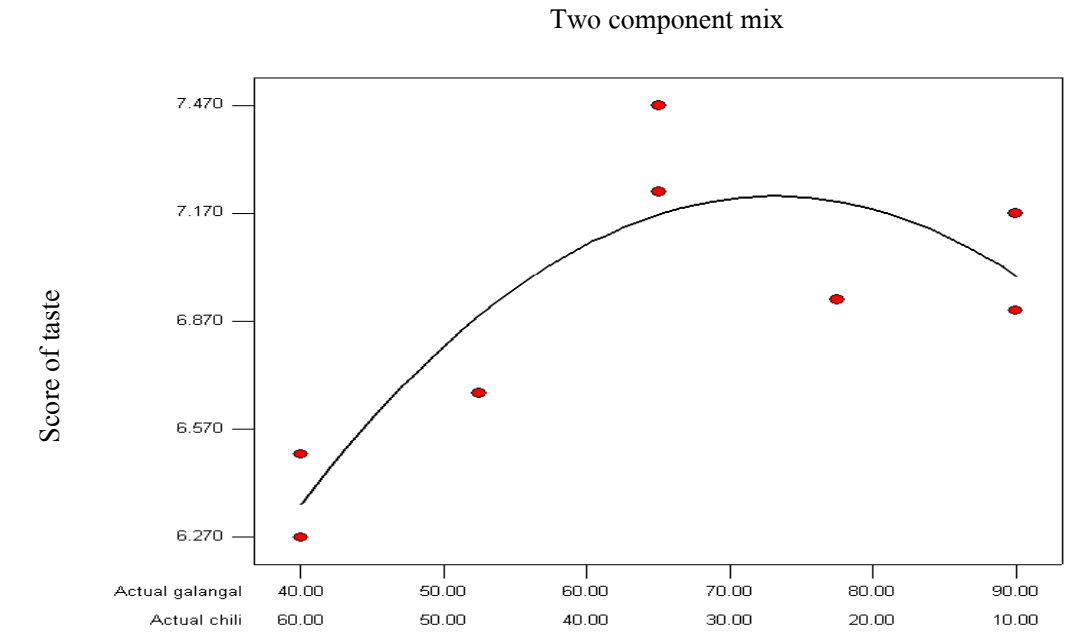


Figure 36. Contour plot of predicted taste scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 30 panelists

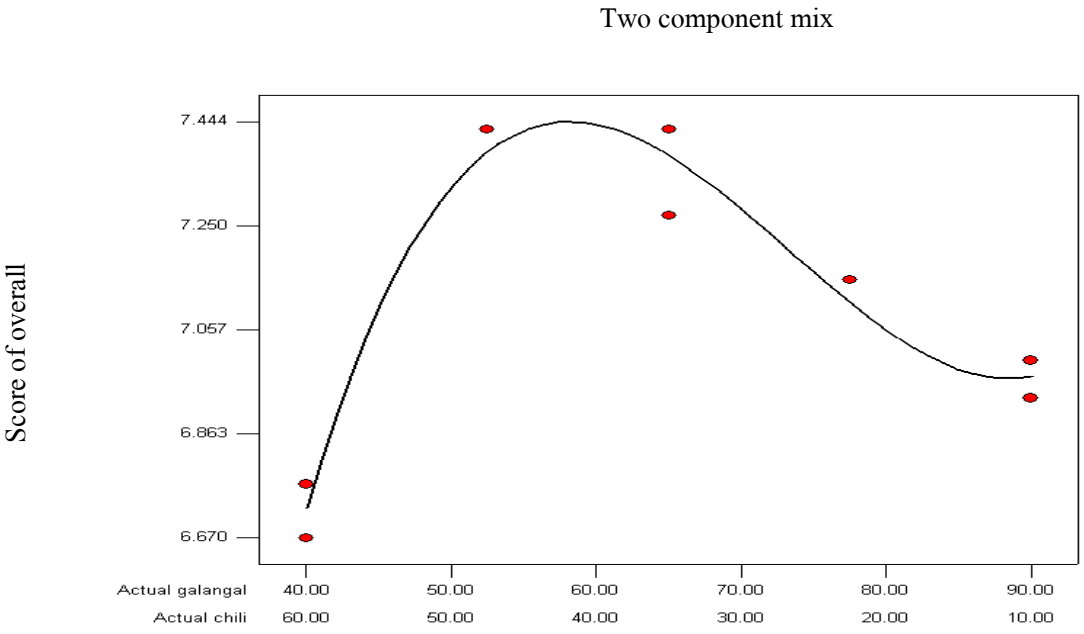


Figure 37. Contour plot of predicted overall scores of shrimp Tom-kha soup with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 30 panelists

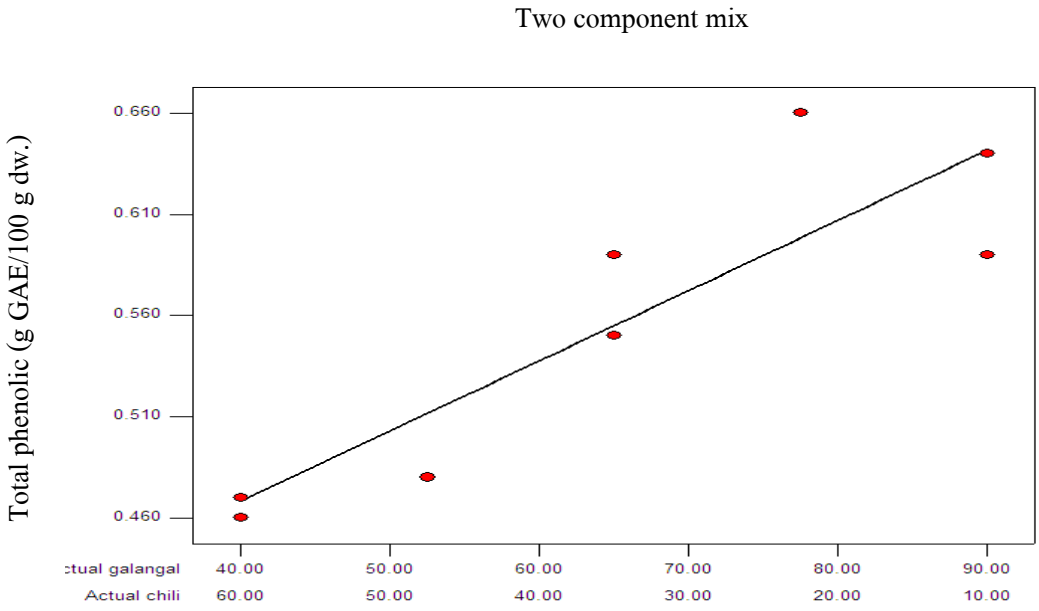


Figure 38. Contour plot of predicted total phenolic contents of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

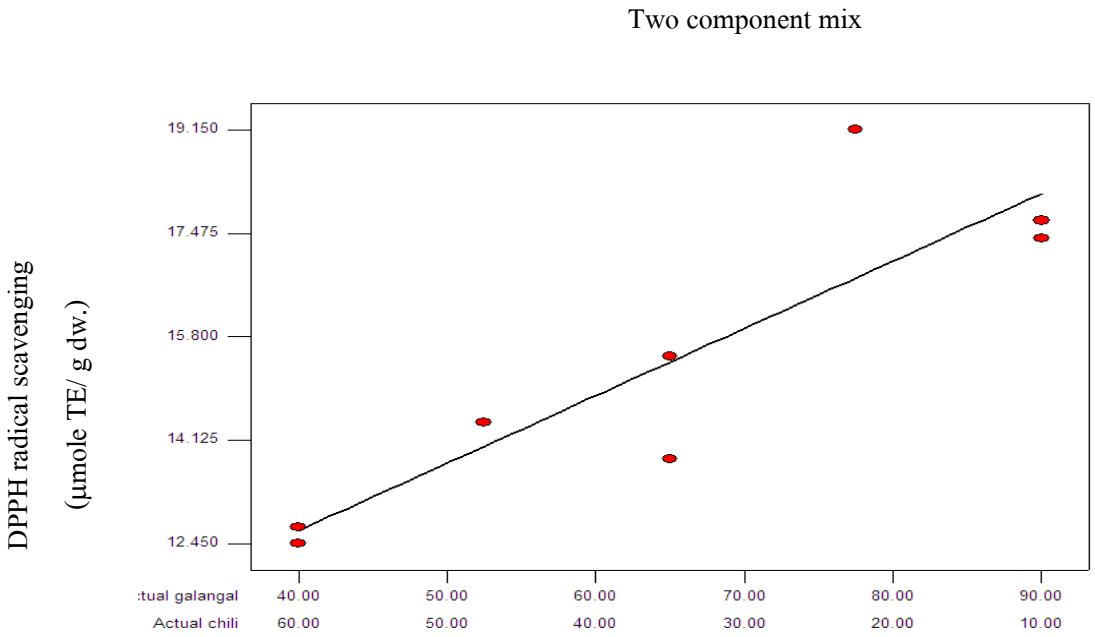


Figure 39. Contour plot of predicted DPPH radical scavenging of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

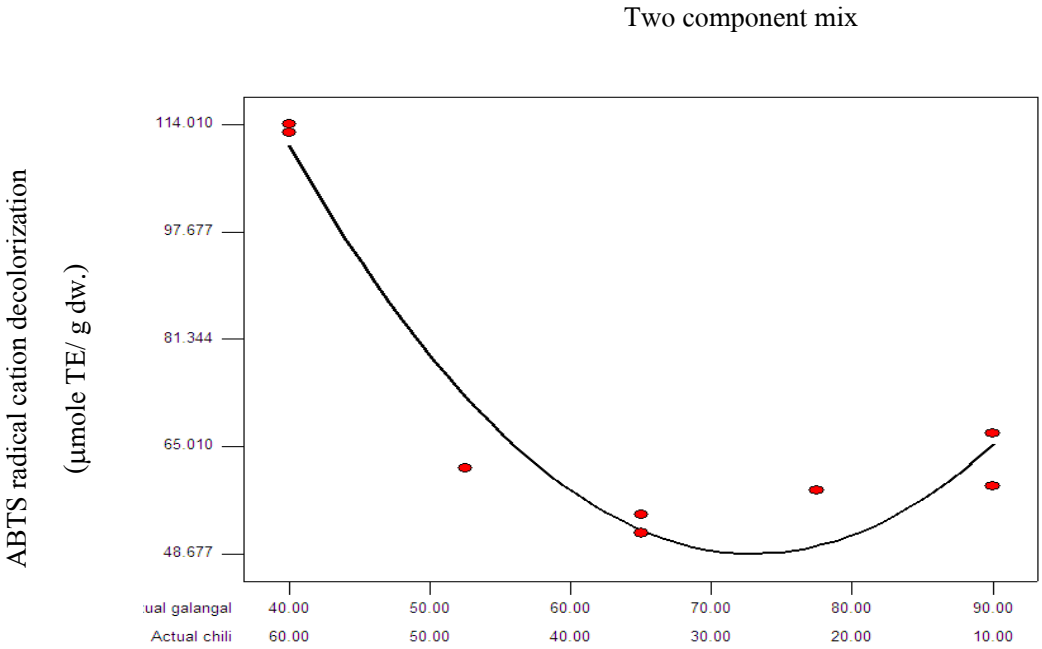


Figure 40. Contour plot of predicted ABTS radical cation decolorization of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

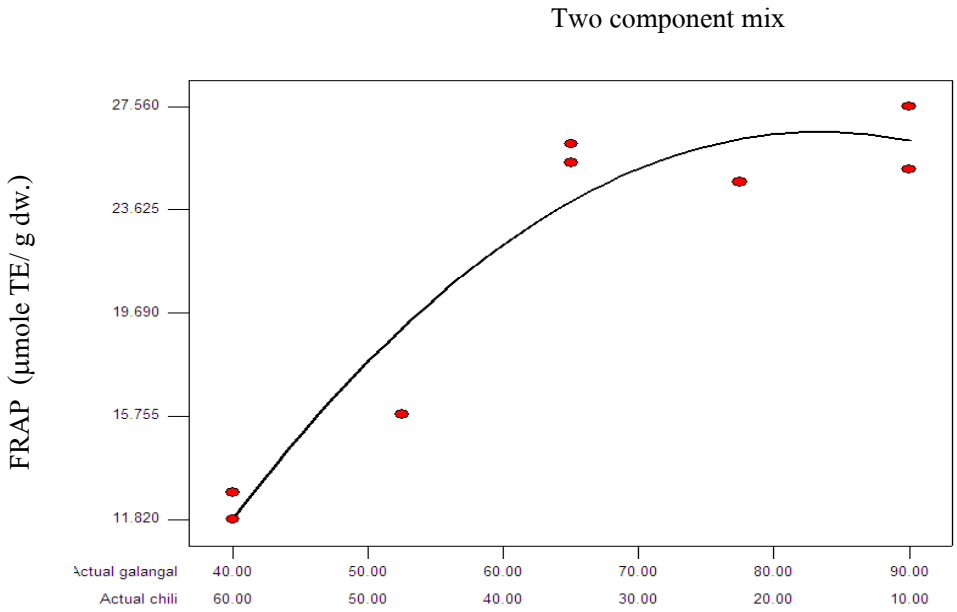


Figure 41. Contour plot of predicted FRAP of crude Tom-kha paste extracts with different galangal and chili contents

Remark: each plot came from n = 6 samples

คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของเครื่องต้มข่าแสดงดัง Table 41 จากการทดลองพบว่าเครื่องต้มข่าเป็นเครื่องแกงที่มีสีแดงเหลือง มีพีเอชเท่ากับ 4.53 ± 0.006 ซึ่งจัดว่าเป็นอาหารที่เป็นกรดต่ำ มี a_w ความชื้นและใยอาหารสูง มีค่าเท่ากับ 0.992 ± 0.001 ร้อยละ 86.91 ± 0.23 และร้อยละ 2.75 ± 0.02 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่าในเครื่องต้มข่าประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกและมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP อย่างไรก็ตามพบว่าเครื่องต้มข่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง เริ่มต้นอยู่ที่ 10^4 โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง เนื่องจากข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ (Siripongvutikorn *et al*., 2005) สอดคล้องกับการทดลองของ นุชรี ชาติวังศากุล (2552) ซึ่งรายงานว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในข่า ตะไคร้ พริกขี้หนู และใบมะกรูด อยู่ในช่วง 4.4×10^2-6.2×10^4, 2.65×10^3-2.96×10^5, 2.02×10^3-2.30×10^5 และ 3.10×10^3-3.60×10^4 โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง นอกจากนี้พบว่าตะไคร้มีความถี่ของการพบจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ชอบอุณหภูมิปานกลางในปริมาณสูง ($> 10^5$ โคโลนีต่อกรัมของตัวอย่าง) ทั้งนี้อาจเนื่องจากส่วนที่ใช้ประโยชน์ของตะไคร้มีการสัมผัสกับวัสดุปลูกโดยตรง และมีลักษณะของกาบใบที่ซ้อนทับกัน ซึ่งยากแก่การทำความสะอาด

Table 41. Physical, chemical, antioxidant properties and microbiological quality of Tom-kha paste

Properties/microbial	values
Color	
L*	54.76 ± 1.35
a*	6.30 ± 0.82
b*	28.70 ± 0.71
C*	29.39 ± 0.68
H^{o}	77.63 ± 1.64
pH	4.53 ± 0.006
a_w	0.992 ± 0.001
Moisture (%)	86.91 ± 0.23
Fiber (%)	2.75 ± 0.02
Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	0.60 ± 0.04
DPPH radical scavenging (μmole TE/g dw.)	14.61 ± 2.09
ABTS radical cation decolorization (μmole TE/g dw.)	63.60 ± 4.35
FRAP (μmole TE/g dw.)	23.77 ± 2.35
Microbial	
Mesophile (cfu/g)	1.04×10^{4}
Psychrophile (cfu/g)	<30
Lactic acid bacteria (cfu/g)	1.78×10^{3}
Yeat & Mold (cfu/g)	ND
Coliform (MPN/g)	<6.1
E. coli (MPN/g)	ND
S. aureus (cfu/g)	ND
B. cereus (cfu/g)	ND
C. perfringens (cfu/0.001 g)	ND

Remark: ND = not detected

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

6. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มข่าในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ และ อุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ)

การเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ และอุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ) พบว่า

6.1 ค่าสี

การเก็บรักษาเครื่องต้มข่าทั้งที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) บรรจุในถุง LDPE ในสภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าเครื่องต้มข่ามีค่า L* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย (Figure 42) ในขณะที่ค่า a* และ b* ลดลง (Figure 43, 44) ซึ่งแสดงว่าเครื่องต้มข่ามีสีซีดจางลง และเมื่อพิจารณาค่าเฉดสี พบว่าเฉดสีมีค่าอยู่ในช่วง 71.51-73.62 ซึ่งเข้าใกล้สีเหลืองมากขึ้น (H^{o}, 0 = สีแดง, 90 = สีเหลือง) (Figure 44) ซึ่งอาจเนื่องมาจากการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ที่เป็นองค์ประกอบในพริกขี้หนู ซึ่งปกติมีสีแดงส้ม โดยการสลายตัวของแคโรทีนอยด์ในการทดลองนี้อาจเกิดจาก (1) การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ตรงตำแหน่งที่เป็นพันธะคู่แบบคอนจูเกตของโครงสร้าง (2) การเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน โดยกรดหรือแสง (3) การทำงานของเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่พบในพืชและทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแคโรทีนอยด์ โดยเอนไซม์ไลพอกซีจีเนสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ได้แก่ กรดลิโนเลอิคและลิโนเลนิค (Orhan *et al*., 2002; Li-E *et al*., 2008) ที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าทำให้เกิดเพอร์ออกไซด์และเพอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับแคโรทีนอยด์ (Figure 10) ทำให้แคโรทีนอยด์สีจางลง (Elbe, 1996; Kidmose *et al*., 2000; Sikorski and Haard, 2007) นอกจากนี้สีที่เปลี่ยนไปอาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส

เครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือเกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในช่วง 1-7 วันแรก โดยมีการบวมของถุงที่ใช้บรรจุ ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกชนิด heterofermentative ซึ่งสามารถสร้างกรดและก๊าซ ในขณะที่เครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง โดยไม่มีปัญหาการบวมของถุงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ อย่างไรก็ตามพบว่าการเก็บเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิห้อง ทำให้ค่า L* (Figure 42) และ b* (Figure 44) มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ค่า a* (Figure 43) มีค่าเพิ่มขึ้น และค่าเฉดสีมีค่าลดลง (Figure 45) ซึ่งอาจเนื่องมาจากมีการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดส ได้แก่ โมโนฟีนอลออกซิเดส

(monophenol oxidase) และไดฟีนอลออกซิเดส (diphenol oxidase) ซึ่งทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-40°ซ (Concellon *et al*., 2004) โดยในสภาวะที่มีออกซิเจนโมโนฟีนอลออกซิเดส จะเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน ไปยังตำแหน่งออโตซึ่งอยู่ติดกับหมู่ไฮดรอกซิลของโมโนฟีนอลเป็นออโตไดฟีนอล และต่อมาเอนไซม์ไดฟีนอลออกซิเดสจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของออโตไดฟีนอลเป็นออโตควิโนน (สุทธวัฒน์ เบญจกุล, 2548; Lamikanra, 2002; Concellon *et al*, 2004) ออโตควิโนนเป็นสารที่ไม่เสถียรและสามารถทำปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชัน (polymerization) กับกรดอะมิโนหรือโปรตีนทำให้เกิดเมลานิน ซึ่งเป็นรงควัตถุสีน้ำตาล (Duangmal and Apenten, 1999; Lamikanra, 2002; Concellon *et al*, 2004) นอกจากนี้ออโตควิโนนที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกเกิดเป็นสารประกอบใหม่ที่มีสีเข้ม (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2543)

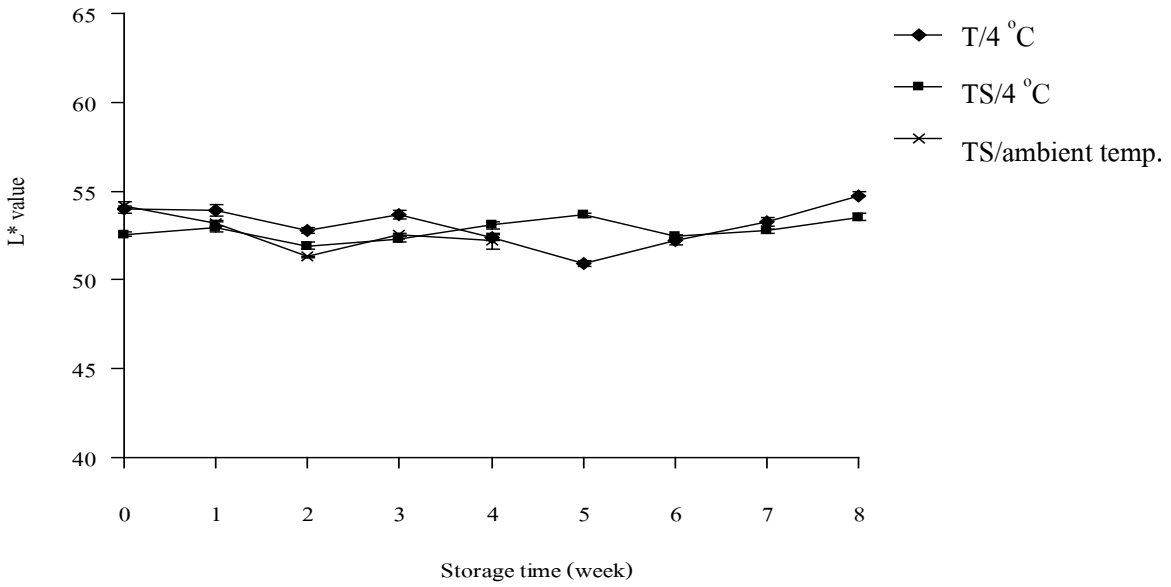


Figure 42. Changes in L* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

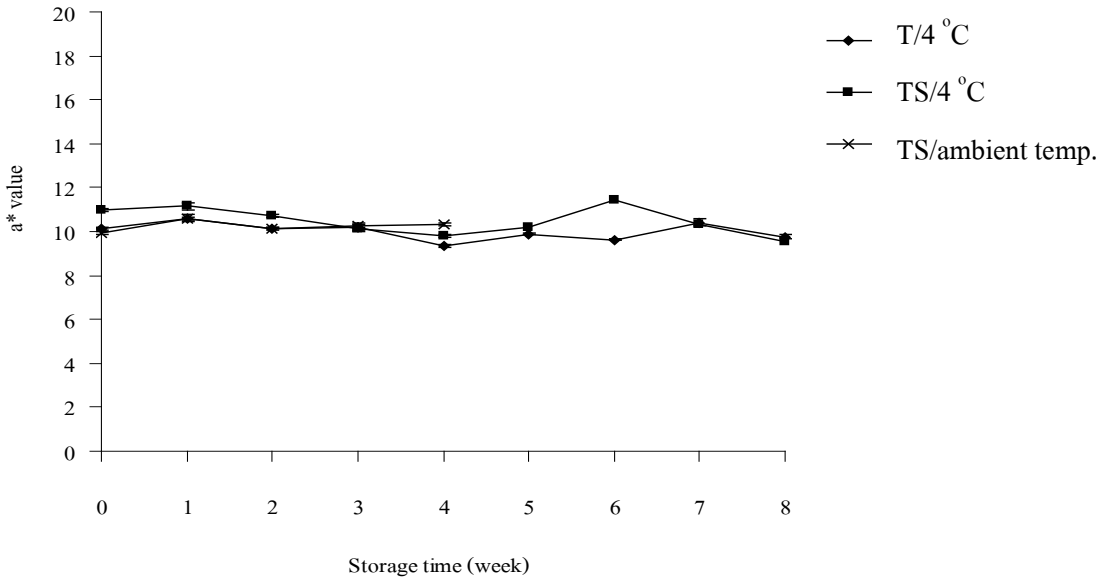


Figure 43. Changes in a* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

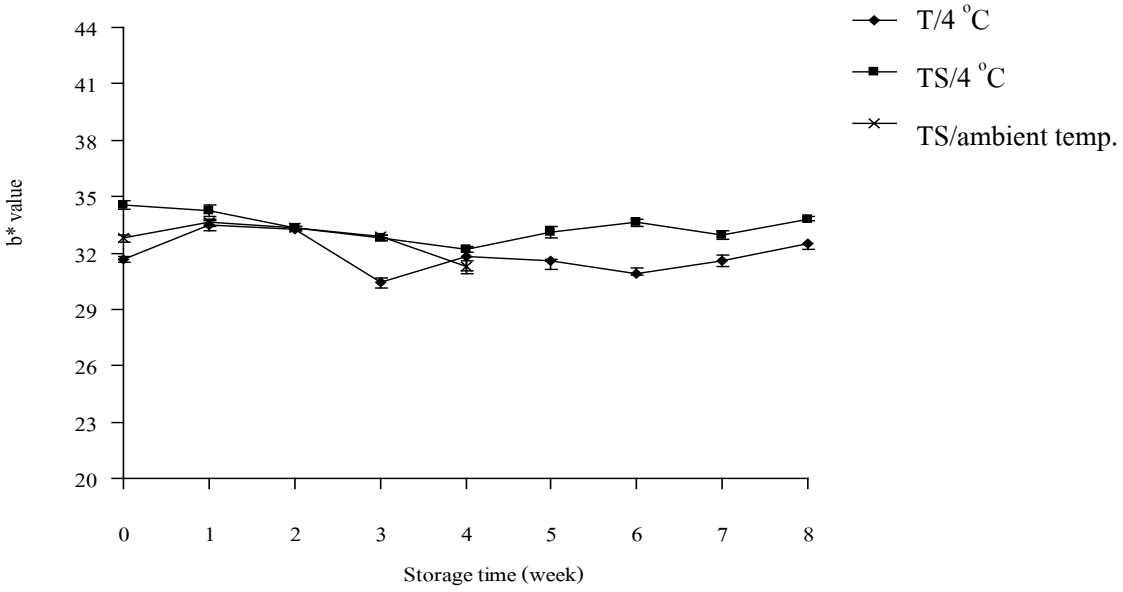


Figure 44. Changes in b* values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

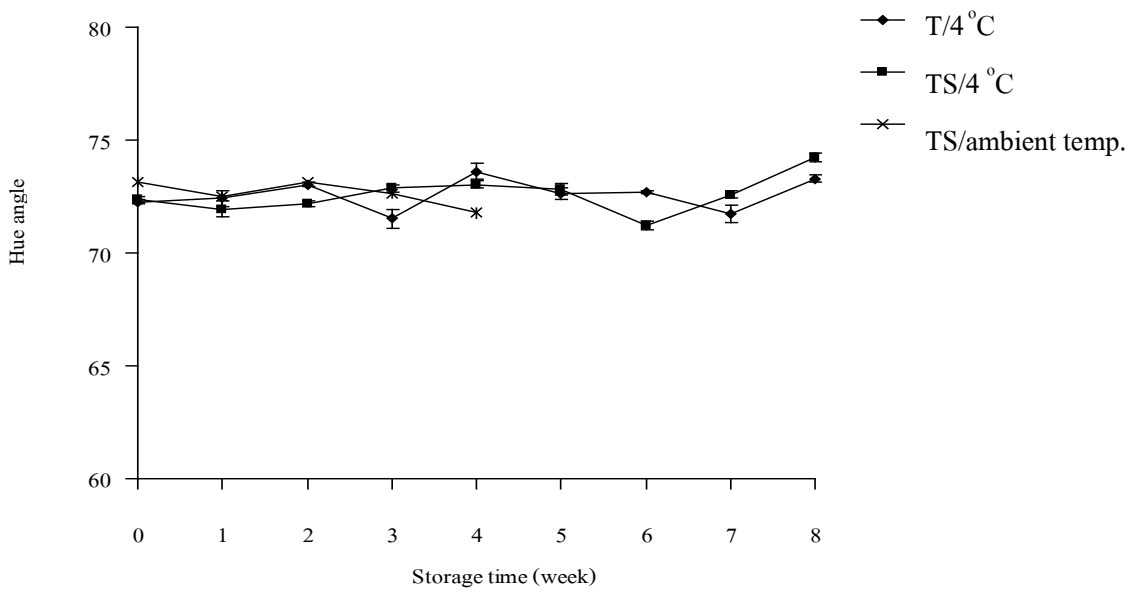


Figure 45. Changes in Hue angle values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

6.2 พีเอช

การเก็บรักษาเครื่องต้มข่าทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ 4±2°ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์พบว่าเครื่องต้มข่ามีพีเอชค่อนข้างคงที่ (Figure 46) แสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิต่ำช่วยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์และการเกิดปฏิกิริยาเคมีได้ดี

การเก็บรักษาเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 1-7 วัน มีผลทำให้เกิดการบวมของถุงเครื่องต้มข่าและมีพีเอชเท่ากับ 3.22 ± 0.01 ทั้งนี้การบวมของถุง อาจมีผลมาจากการเจริญของแบคทีเรียแลคติกชนิด heterofermentative ซึ่งสามารถสร้างกรดและก๊าซ ได้แก่ กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ เอธานอลและ/หรือกรดอะซิติก (Axelssona, 2004; Maki, 2004) ส่วนเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง พบว่าพีเอชมีค่าลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ โดยพีเอชลดลงจาก 4.16 ± 0.01 ในสัปดาห์ที่ 1 เป็น 3.31 ± 0.02 ในสัปดาห์ที่ 2 และพบว่าพีเอชมีแนวโน้มคงที่ในสัปดาห์ที่ 3 และ 4 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการเจริญของ *Pediococcus halophillus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติก ชนิด homofermentative ที่เจริญเติบโตได้ดีในอาหารที่มีเกลือร้อยละ 6-8 และเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-40°ซ (ประสิทธิ์ อติวีระกุล, 2527; อรตรี รอดเจริญ, 2542) นอกจากนี้ Steinkraus (1992) พบว่า Leuconostoc และ Streptococcus ที่สร้างกรดแลคติกทำให้อาหาร

มีพีเอชต่ำสุดที่ 4.0-4.5 ส่วน Lactobacillus และ Pediococcus บางสายพันธุ์ทำให้อาหารมีพีเอชต่ำสุดประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเจริญของตัวเอง Pederson และ Albury (1969 อ้างโดย Maki, 2004) พบว่าอุณหภูมิ 32 °ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีอัตราการสร้างกรดสูง ดังนั้นการที่พีเอชของเครื่องต้มข่าเติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องลดลงอย่างรวดเร็วเป็นผลมาจาก (1) การสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติก และ (2) เครื่องต้มข่าประกอบด้วยเครื่องเทศซึ่งไม่ใช่แหล่งของโปรตีนเปปไทด์และกรดอะมิโน ส่งผลให้ความสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงของพีเอช (buffering capacity) ได้น้อย (Maki, 2004)

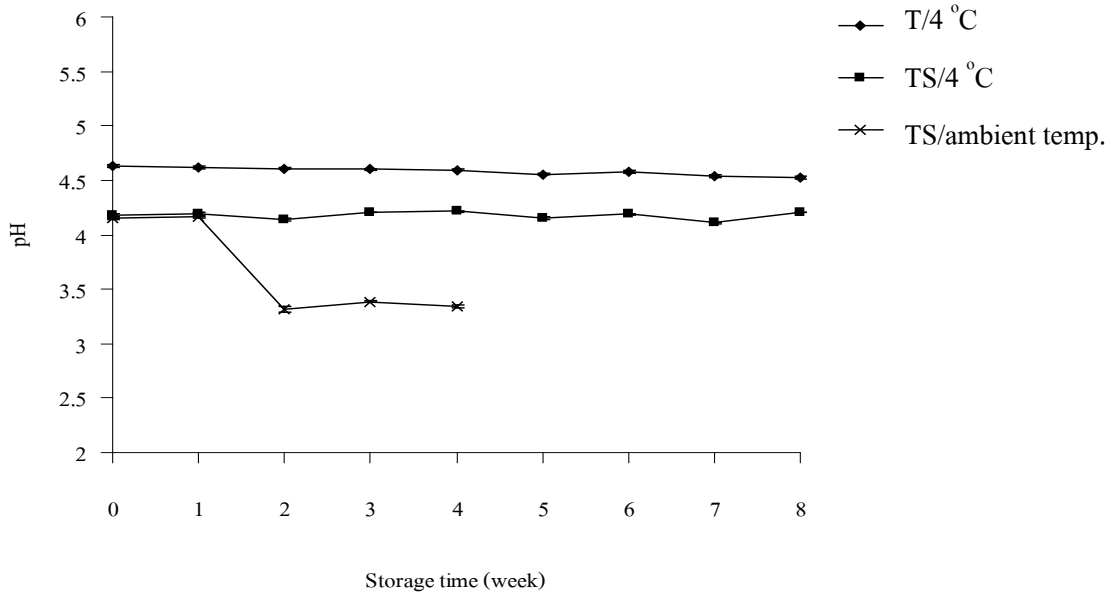


Figure 46. Changes in pH values of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

6.3 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชัน

เมื่อเก็บรักษาเครื่องต้มข่าและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 ที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) (Figure 47) ซึ่งอาจเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มข่า เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Pinelo *et al.*, 2004a) นอกจากนี้อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลิกเป็นออโตควิโนน (Concellon *et al.*, 2004)

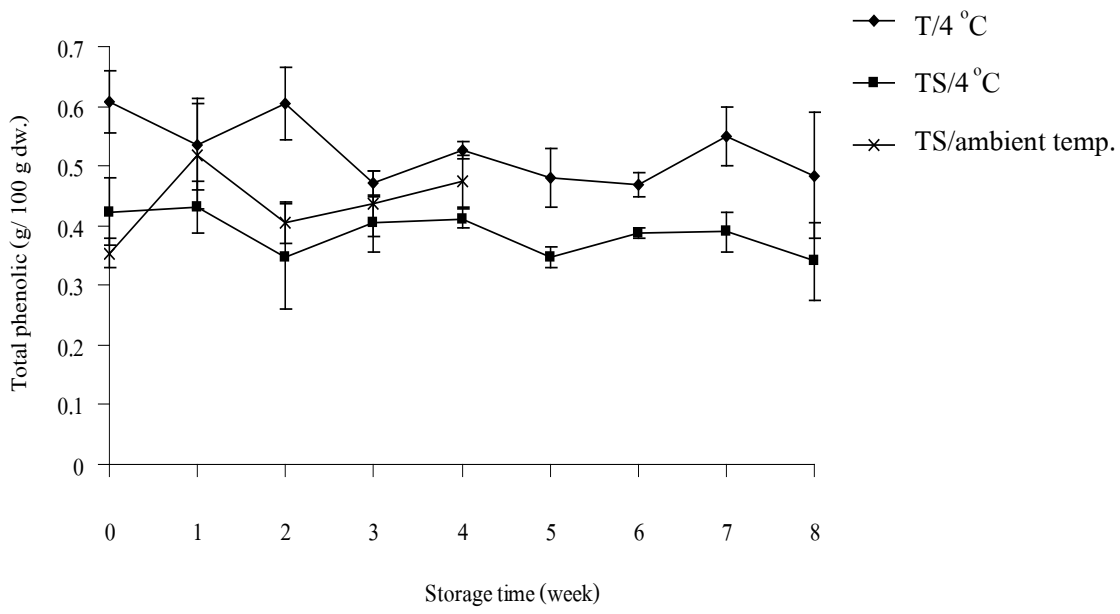


Figure 47. Changes in the total phenolic contents of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

เครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือมีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ไม่เกิน 7 วัน อาจเนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกตามที่กล่าวไปแล้วข้างต้น ในขณะที่เครื่องต้มข่าเติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลกติกซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์ เบตากลูโคซิเดส (β-glucosidase) ย่อยไกลโคไซด์ ซึ่งเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาล ทำให้เกิดการปลดปล่อยของสารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับน้ำตาล (Stechell, 2000; Tsangalis *et al*., 2002) และทำให้โพลีฟีนอลิกซึ่งเป็นสารเชิงซ้อนถูกย่อยสลายเป็นสารประกอบ ฟีนอลิกอย่างง่ายส่งผลให้สามารถแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น (Fernandez-Orozco *et al*., 2008) การหมักทำให้เกิดการสลายตัวของผนังเซลล์พืชเกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกและ/หรือจุลินทรีย์ทำให้เกิดการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ในระหว่างการหมัก (Katina *et al*, 2007) นอกจากนี้การที่แบคทีเรียแลคติกเจริญส่งผลให้เครื่องต้มข่ามีพีเอชลดลงซึ่งสภาวะดังกล่าวอาจทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกที่จับอยู่กับสารอื่นๆ เกิดการย่อยได้เป็นสารประกอบฟีนอลิกอิสระ (Liyana-Pathirana and Shahidi, 2005)

6.4 สมบัติการต้านออกซิเดชัน

เมื่อพิจารณาความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Figure 48) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ มีแนวโน้มลดลง การลดลงของความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในเครื่องต้มข่า อาจเกิดจาก (1) การทำงานของเอนไซม์โพลีฟีนอลออกซิเดสเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลิกเป็นออโตควิโนน (Concellon *et al*., 2004) (2) การเกิดปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มข่าเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนและทำให้เกิดอุปสรรคทางด้านโครงสร้างทำให้ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมมีค่าน้อยลง (Pinelo *et al*., 2004a) (3) การสลายตัวของแคโรทีนอยด์ (Elbe, 1996; Kidmose *et al*., 2000; Sikorski and Haard, 2007) ตามที่กล่าวไปแล้วข้างต้นในข้อ 6.1 และ (4) อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์แอสคอร์เบทออกซิเดสส่งผลให้กรดแอสคอร์บิคถูกออกซิไดซ์เป็นกรดดีไฮโดรแอสคอร์บิค ซึ่งไม่แสดงกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ (Takamura *et al*., 2002 อ้างโดย Yamaguchi *et al*., 2003)

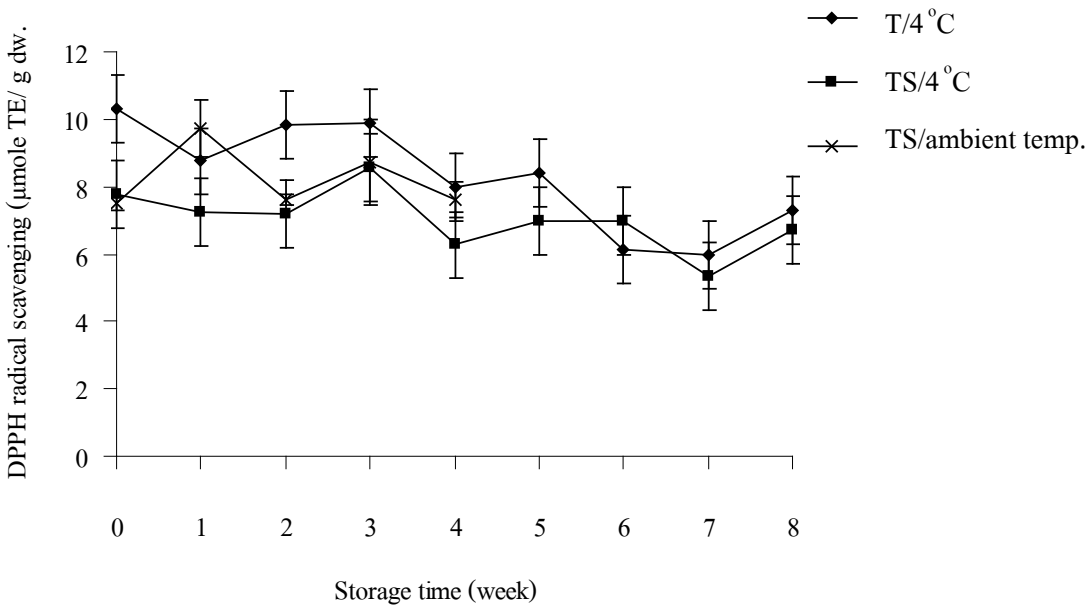


Figure 48. Changes in the DPPH radical scavenging of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ มีแนวโน้มลดลง และมีค่าต่ำสุดในสัปดาห์ที่ 7

ของการเก็บรักษาแต่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (สัปดาห์ที่ 8) พบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS ของเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ เพิ่มขึ้นจนกระทั่งมีค่าไม่แตกต่าง ($p \geq 0.05$) จากเริ่มต้น (วันที่ 0)

ส่วนเครื่องต้มข่าเติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS มีแนวโน้มลดลงและเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษา (Figure 49)

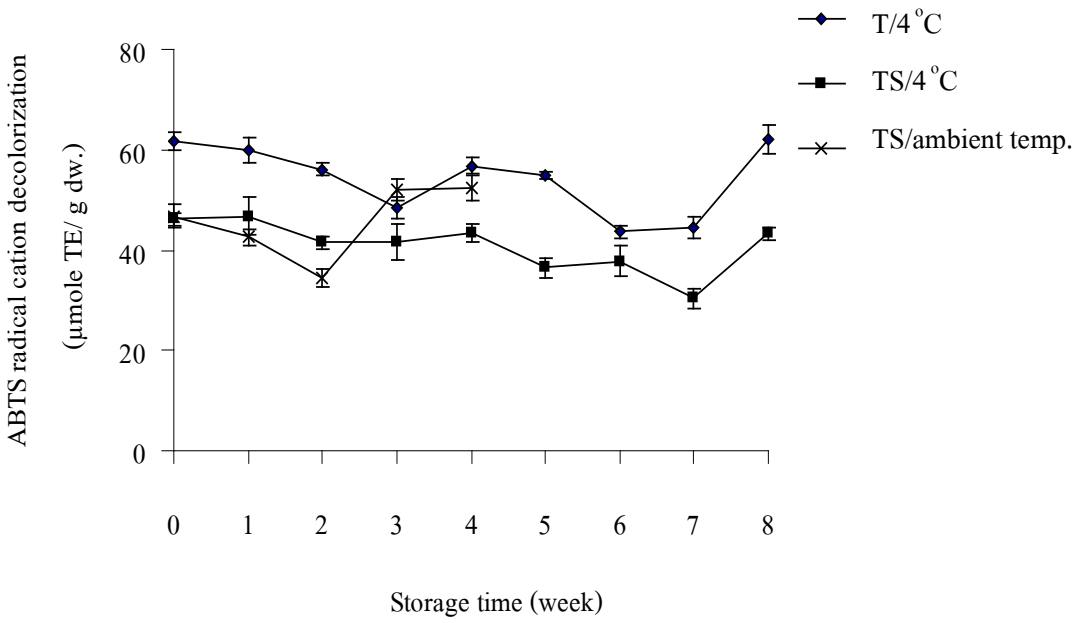


Figure 49. Changes in the ABTS radical cation decolorization of Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt

ความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการเก็บรักษาและมีค่าลดลงในสัปดาห์ที่ 6 และ 7 แต่เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (8 สัปดาห์) พบว่าความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP ของเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือเก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ มีค่าไม่แตกต่าง ($p \geq 0.05$) จากเริ่มต้น (วันที่ 0) (Figure 50) ส่วนเครื่องต้มข่าเติมเกลือเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องพบว่าความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) เนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

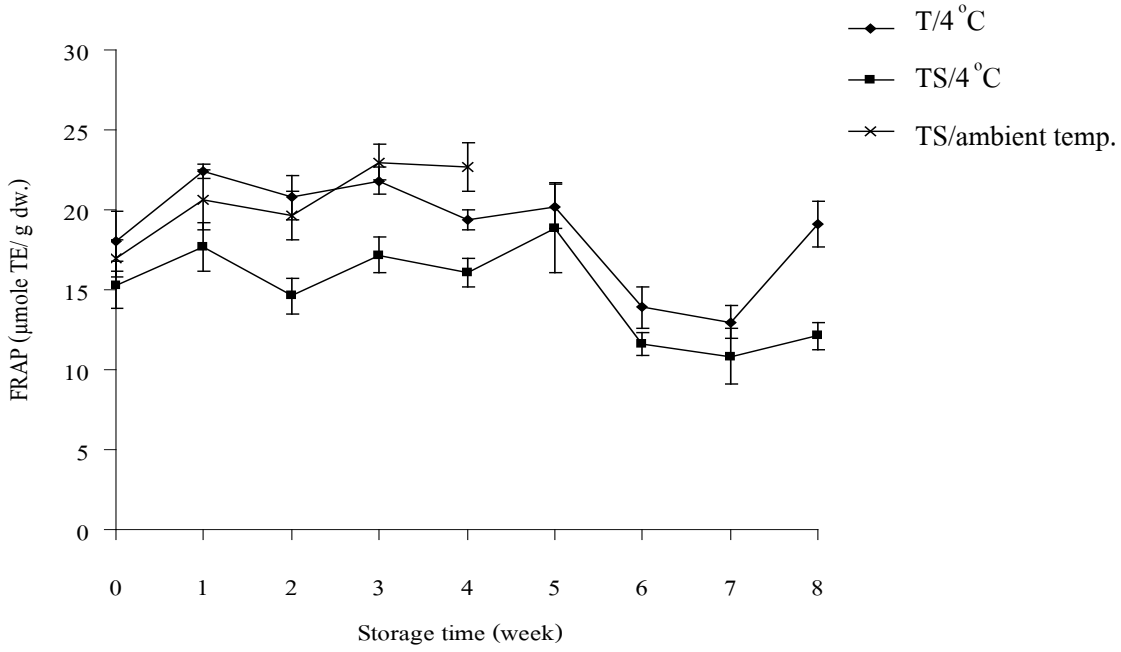


Figure 50. Changes in the FRAP of Tom-kha paste with and without the addition of salt during storage at 4 ± 2 °C and ambient temperature (29 ± 2 °C)

Remark: T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with aded salt

เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและสมบัติการต้านออกซิเดชันของเครื่องต้มข่าในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสัมพันธ์กับความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS และความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP (Table 42) แต่ความสัมพันธ์ของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดกับความสามารถในการให้อิเล็คตรอนในระบบ FRAP มีค่าน้อย อาจเนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในเครื่องต้มข่าในระหว่างการเก็บรักษามีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมสูงแต่มีความสามารถในการให้อิเล็คตรอนต่ำ

Table 42. Bivariate correlation of the total phenolic contents, DPPH values, ABTS values and FRAP values from all Tom-kha paste during storage

	Total phenolic (g GAE/100 g dw.)	DPPH value (μmole TE/g dw.)	ABTS value (μmole TE/g dw.)	FRAP value (μmole TE/g dw.)
Total phenolic (g GAE/ 100 g dw.)	1.000	0.552**	0.694**	0.426*
DPPH value (μmole TE/g dw.)	0.552**	1.000	0.558**	0.709**
ABTS value (μmole TE/g dw.)	0.694**	0.558**	1.000	0.577**
FRAP value (μmole TE/g dw.)	0.426*	0.709**	0.577**	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

6.5 จุลินทรีย์

การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ แบคทีเรียแลคติกและยีสต์และรา ของเครื่องต้มข่าที่ไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่ $4 \pm 2^{\circ}$ซ และอุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2^{\circ}$ซ) แสดงดัง Table 42 จากการทดลองพบว่าเกลือมีผลต่อปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง โดยในเครื่องต้มข่าที่เติมเกลือพบปริมาณเริ่มต้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางน้อยกว่าเครื่องต้มข่าที่ไม่เติมเกลือ ซึ่งโดยทั่วไปอาหารที่มีเกลือร้อยละ 4-10 สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง (บุษกร อุตรภิชาติ, 2545) เกลือมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์คือ (1) ทำให้ความดันออสโมติกในเซลล์ของจุลินทรีย์สูงกว่าสิ่งแวดล้อมภายนอกเซลล์ส่งผลให้น้ำในเซลล์ของจุลินทรีย์ซึมออกมาข้างนอก (plasmolysis) เพื่อรักษาความสมดุลของความเข้มข้นของของเหลวนอกเซลล์และในเซลล์ให้เท่าๆกัน ส่งผลให้จุลินทรีย์สูญเสียน้ำและแห้งตาย (2) เกลือทำให้ a_w ของอาหารมีค่าลดลงเนื่องจากเกลือจะแตกตัวเป็นไอออนแล้วดูดน้ำไว้ เมื่อ a_w มีค่าน้อย ทำให้จุลินทรีย์ไม่มีน้ำอิสระใช้ในการเจริญเติบโต (3) เกลือแตกตัวเป็นประจุคลอไรด์ทำให้เกิดการออกซิไดซ์อย่างรุนแรงกับส่วนประกอบของเซลล์และ (4) เกลือมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการย่อยสลายโปรตีน (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538; นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ และปรีชา สุวรรณพินิจ, 2544)

โดยทั่วไปจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบในเครื่องต้มข่าคือแบคทีเรีย (Aycicek *et al*., 2006) สัดส่วนชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ที่พบอาจเปลี่ยนแปลงไปตามชนิดของวัตถุดิบ แหล่งที่มาของวัตถุดิบ การจัดการในระหว่างการปลูก ฤดูกาล สภาพอากาศ การเก็บเกี่ยวและการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว เช่น การล้าง การตัดแต่ง ลักษณะของบรรจุภัณฑ์ การเก็บรักษาและวิธีการขนส่ง (Heard, 2002; Aycicek *et al*., 2006)

ในช่วงแรก (0-2 สัปดาห์) ของการเก็บรักษาเครื่องต้มข่าที่ไม่เติมเกลือที่อุณหภูมิ 4°ซ พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิต่ำ จุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศ และแบคทีเรียแลคติก (Table 43) แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นพบว่าปริมาณของจุลินทรีย์ดังกล่าวมีค่าลดลง การลดลงของจุลินทรีย์ดังกล่าวอาจเนื่องจากสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญมีน้อยลง (Thomas and O′Beirne, 2000) หรืออาจเนื่องมาจากสารต้านจุลินทรีย์ที่พบในเครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่า ได้แก่ ข่า (กฤติกา นรจิตร, 2548; Jantan *et al*., 2003; Oonmetta-aree *et al*., 2006; Mayachiew and Devahastin, 2008) และตะไคร้ (Sacchetti *et al*., 2005; Wannissorn *et al*., 2005)

Table 43. Mesophile, anaerobe, psychrophile, lactic acid bacteria, yeast and mold of Tom-kha paste with and without added salt during storage at $4 \pm 2^{o}C$ and ambient temperature ($29 \pm 2^{o}C$)

Type of microbial	Treatment	Storage time (weeks)								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Mesophile	T/4	1.04×10^{3}	1.24×10^{4}	1.19×10^{5}	3.00×10^{4}	2.67×10^{4}	9.33×10^{2}	6.33×10^{2}	3.23×10^{2}	8.10×10^{2}
(cfu/g)	TS/4	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	2.33×10^{2}	7.00×10^{2}	6.63×10^{2}	5.33×10^{2}	4.83×10^{2}	6.96×10^{2}
	TS/R	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	<30	<30	-	-	-	-
Anaerobe	T/4	4.00×10^{2}	4.8×10^{3}	8.4×10^{4}	7.8×10^{4}	7.47×10^{4}	7.37×10^{4}	4.63×10^{4}	3.00×10^{3}	2.30×10^{3}
(cfu/g)	TS/4	3.30×10^{2}	$<10^{2}$	$<10^{2}$	$<10^{2}$	6.00×10^{2}	4.97×10^{2}	4.67×10^{2}	5.12×10^{3}	4.03×10^{3}
	TS/R	1.17×10^{2}	<30	$<10^{2}$	8.37×10^{4}	5.53×10^{4}	-	-	-	-
Psychrophile	T/4	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30
(cfu/g)	TS/4	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30
	TS/ R	<30	<30	<30	<30	<30	-	-	-	-
Lactic acid bacteria	T/4	1.78×10^{2}	3.23×10^{2}	1.28×10^{5}	5.50×10^{5}	3.33×10^{4}	1.96×10^{4}	8.17×10^{3}	2.90×10^{4}	8.40×10^{3}
(cfu/g)	TS/4	3.00×10^{2}	5.50×10^{2}	5.47×10^{2}	5.37×10^{2}	5.37×10^{2}	4.60×10^{2}	4.93×10^{2}	3.50×10^{2}	6.00×10^{2}
	TS/R	1.73×10^{3}	2.14×10^{5}	1.64×10^{7}	$<10^{6}$	4.07×10^{5}	-	-	-	-
Yeast and mold	T/4	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30
(cfu/g)	TS/4	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30	<30
	TS/R	<30	<30	<30	<30	<30	-	-	-	-

Remark: - is not analyze, T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt, R = ambient temperature ($29 \pm 2^{o}C$)

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณของแบคทีเรียแลคติกในเครื่องต้มข่าที่ไม่เติมเกลือและมีการบวมของถุง พบว่ามีค่า $>10^6$ โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า เช่นเดียวกับเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ) มีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกอย่างรวดเร็ว (Table 42) ส่งผลให้ลดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง ทั้งนี้กลไกการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของกรดแลกติกและกรดอะซิติกที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น คือ (1) ทำให้จุลินทรีย์ถูกทำลายด้วยปัจจัยสิ่งแวดล้อมต่างๆได้ง่าย เนื่องจากส่วนที่ไม่แตกตัวของกรดแลคติกและกรดอะซิติกผ่านเข้าไปในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งภายในเซลล์จุลินทรีย์มีพีเอชค่อนข้างเป็นกลางทำให้กรดแลคติกและกรดอะซิติกเกิดการแตกตัวได้ H^+ ส่งผลให้เซลล์ต้องใช้พลังงานในการกำจัด H^+ ออกไป ทำให้จุลินทรีย์อ่อนแอ (Davidson, 1997) และ (2) ทำให้เกิดการสูญเสียสภาพธรรมชาติของเอนไซม์และกรดนิวคลีอิกซึ่งมีผลต่อการสังเคราะห์โปรตีนและลักษณะทางพันธุกรรมของจุลินทรีย์ (Davidson, 1997; Garbutt, 1997) นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกอาจสร้างแบคเทอริโอซินซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ (Uhlman *et al*., 1992; Garver and Muriana, 1993)

เมื่อนำเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 ทั้งที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 ± 2 °ซ และที่อุณหภูมิห้อง (29 ± 2 °ซ) มาวิเคราะห์ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus*, *B.cereus* และ *C. perfringens* (Table 43) พบว่าตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรคดังกล่าว แต่มีการตรวจพบ Coliform ในเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือเก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ จำนวน 6.1 MPN ต่อกรัมของเครื่องต้มข่า โดยทั่วไป Coliform เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบในข่าและตะไคร้ โดยการปนเปื้อนทั้งจากทางตรงและทางอ้อม เช่น มีการปนเปื้อนจากดินที่ใช้ปลูก จากแมลงและสัตว์ต่างๆ (Baylis, 2006) นอกจากนี้พบว่าเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ ตรวจไม่พบการเจริญของ Coliform เนื่องจากเกลือมีผลต่อ Coliform ตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

จุลินทรีย์ที่ชอบอุณหภูมิปานกลางเป็นตัวบ่งชี้ถึงความเพียงพอของการล้างทำความสะอาด การควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการแปรรูป การขนส่งและการเก็บรักษา (Aycicek *et al*., 2006) Hazard Analysis and Critical Control Points - Total Quality Management (HACCP - TQM) Technical Guidelines กำหนดมาตรฐานคุณภาพทางจุลินทรีย์ของวัตถุดิบอาหาร กำหนดปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและคุณภาพของอาหาร ดังนี้ ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $<10^4$ โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพดี 10^4- $5.0\text{x}10^6$ โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพปานกลาง $5.0\text{x}10^6$-$5.0\text{x}10^7$ โคโลนีต่อกรัม จัดเป็นคุณภาพไม่ดี และ $>5.0\text{x}10^7$ โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย (Anonymous, 1998 อ้างโดย Aycicek *et al*, 2006) จากการทดลองพบว่า

Table 44. Coliform, *E.coli*, *C.perfringens, S. aureus* and *B. cereus* in Tom-kha paste with and without added salt during storage at 4 ± 2^{o}C and ambient temperature (29 ± 2^{o}C)

Type of microbial	Sample	Storage time (weeks)								
		0	1	2	3	4	5	6	7	8
Coliform	T/4	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1	6.1
(MPN/g)	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
E. coli	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(MPN/g)	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
C. perfringens	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(cfu/0.001 g)	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
S. aureus	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(cfu/g)	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-
B. cereus	T/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
(cfu/g)	TS/4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	TS/ R	ND	ND	ND	ND	ND	-	-	-	-

Remark: - is not analyzed, ND = not detected, T = Tom-kha without added salt, TS = Tom-kha with added salt, R = ambient temperature

เมื่อเก็บรักษาเครื่องต้มข่าไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ที่อุณหภูมิ $4 \pm 2^{\circ}$ซ เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เครื่องต้มข่ายังมีคุณภาพดี แต่อย่างไรก็ตามเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือและเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องมีอายุการเก็บรักษาแค่ 1 และ 23 วัน ตามลำดับ เนื่องจากมีการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและมีการสร้างแก๊สส่งผลให้ถุงเครื่องต้มข่าบวม ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และนอกจากนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารดิบ (อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆก่อนบริโภค) กำหนดให้พบปริมาณ *E. coli* < 50 MPN/กรัม, *S. aureus* < 200/กรัม, *B. cereus* < 200/กรัม และไม่พบ *C. perfringens* ในตัวอย่าง 0.001 กรัม ซึ่งจากการทดลองพบว่าเครื่องต้มข่าทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคไม่เกินที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) และการเก็บรักษาเครื่องต้มข่าที่อุณหภูมิต่ำมีประสิทธิภาพในการควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการเติมเกลือหรือการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเพียงอย่างใดอย่างหนึ่ง อย่างไรก็ตามการเติมเกลือมีอิทธิพลต่ำกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ($4 \pm 2^{\circ}$ซ)

6.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เมื่อประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นเครื่องเทศ ความข้นหนืด รสชาติและความชอบรวมของน้ำซุปต้มข่ากุ้งทั้งที่ไม่เติมและเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่ $4 \pm 2^{\circ}$ซ และอุณหภูมิห้อง ($29 \pm 2^{\circ}$ซ) โดยผู้ทดสอบชิม 30 คน ซึ่งเป็นบุคลากรและนักศึกษาภายในคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พบว่าเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา (58 วัน) คะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่นเครื่องเทศของเครื่องต้มข่าที่ไม่เติมเกลือและเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เก็บรักษาที่ $4 \pm 2^{\circ}$ซ มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) ในขณะที่เครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 30 วัน มีคะแนนการยอมรับทางด้านสี กลิ่นเครื่องเทศและรสชาติลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามพบว่าคะแนนการยอมรับของน้ำซุปต้มข่ากุ้งยังเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ ส่วนเครื่องต้มข่าไม่เติมเกลือมีอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากมีการบวมของถุงบรรจุเครื่องต้มข่าตามที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

Table 45. Changes in sensory score of Tom-kha soup prepared from Tom-kha paste kept at various storage times evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Appearances	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall linking
T/4°C	0	7.42 ± 0.89^{a}	7.32 ± 0.95^{ab}	7.00 ± 1.00^{a}	7.27 ± 0.98^{abc}	7.55 ± 1.00^{a}	7.45 ± 1.00^{a}
	9	7.53 ± 0.73^{a}	7.40 ± 0.86^{a}	$7.45 \pm .87^{a}$	7.57 ± 0.77^{a}	7.27 ± 0.64^{a}	7.40 ± 0.72^{ab}
	16	7.20 ± 1.16^{ab}	7.23 ± 1.01^{abc}	7.00 ± 0.98^{a}	7.43 ± 0.86^{ab}	7.37 ± 0.89^{a}	7.33 ± 0.76^{abc}
	23	6.53 ± 0.78^{c}	6.80 ± 0.93^{bc}	6.27 ± 1.11^{b}	7.00 ± 0.83^{bc}	7.10 ± 1.06^{a}	6.89 ± 0.96^{bc}
	30	7.03 ± 0.93^{abc}	7.10 ± 0.96^{abc}	6.93 ± 1.02^{a}	7.17 ± 0.91^{abc}	6.97 ± 1.10^{a}	6.90 ± 0.85^{bc}
	37	7.13 ± 1.14^{ab}	7.27 ± 1.17^{ab}	6.97 ± 1.43^{a}	7.37 ± 0.89^{ab}	7.40 ± 0.93^{a}	7.32 ± 1.00^{abc}
	44	7.33 ± 1.09^{a}	7.30 ± 1.12^{ab}	7.30 ± 0.95^{a}	7.40 ± 1.04^{ab}	7.30 ± 1.18^{a}	7.20 ± 1.13^{abc}
	51	6.73 ± 0.98^{bc}	6.70 ± 1.06^{c}	7.13 ± 0.78^{a}	7.43 ± 0.94^{ab}	7.00 ± 1.11^{a}	6.83 ± 0.91^{c}
	58	7.33 ± 0.71^{a}	7.43 ± 0.90^{a}	7.13 ± 0.82^{a}	6.83 ± 1.09^{c}	7.20 ± 1.19^{a}	7.23 ± 0.94^{abc}

T/4°C = Tom-kha without added salt stored at 4 ± 2 °C

Mean $\pm$ SD from thirty determinations

[a-c] Means within columns with a different letter in the same treatments are significantly difference ($p<0.05$)

Table 45. Changes in sensory score of Tom-kha soup prepared from Tom-kha paste kept at various storage times evaluated by 30 panelists with 9-point hedonic scale (continued)

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Appearances	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall 1inking
TS/4°C	0	7.26 ± 0.82^{a}	$7.32 \pm 0.87^{ab,}$	$7.03 \pm 1.02^{a,}$	7.31 ± 0.76^{abc}	7.39 ± 0.84^{a}	7.45 ± 0.68^{a}
	9	7.43 ± 0.73^{a}	7.30 ± 0.88^{ab}	$7.30 \pm 0.84^{a,}$	7.27 ± 0.98^{abc}	7.27 ± 0.91^{a}	7.43 ± 0.82^{a}
	16	$7.23 \pm .94^{a}$	7.23 ± 0.97^{ab}	7.00 ± 0.95^{a}	7.63 ± 0.72^{ab}	$7.53 \pm 0.86^{a,}$	7.37 ± 0.89^{a}
	23	$7.23 \pm 0.94^{a,}$	$7.10 \pm 0.92^{ab,}$	7.20 ± 0.76^{a}	7.13 ± 0.78^{bc}	$7.30 \pm 0.70^{a,}$	$7.23 \pm 0.73^{a,}$
	30	7.17 ± 0.70^{a}	7.30 ± 0.88^{ab}	7.23 ± 0.86^{a}	7.20 ± 0.89^{abc}	7.30 ± 0.84^{a}	7.37 ± 0.85^{a}
	37	7.43 ± 0.97^{a}	7.47 ± 1.01^{a}	7.33 ± 0.71^{a}	7.43 ± 0.86^{abc}	7.43 ± 0.94^{a}	7.47 ± 0.86^{a}
	44	7.03 ± 1.10^{a}	6.87 ± 1.28^{b}	6.97 ± 0.83^{a}	7.23 ± 1.28^{abc}	7.07 ± 1.25^{a}	7.03 ± 1.25^{a}
	51	7.33 ± 0.92^{a}	7.50 ± 0.90^{a}	7.17 ± 0.99^{a}	7.70 ± 0.88^{a}	7.40 ± 1.00^{a}	7.27 ± 1.02^{a}
	58	7.50 ± 0.73^{a}	7.27 ± 0.83^{ab}	7.30 ± 0.75^{a}	7.03 ± 1.30^{c}	7.00 ± 1.17^{a}	6.93 ± 1.14^{a}
TS/RT	0	$7.55 \pm 1.09^{a,}$	7.52 ± 1.06^{a}	7.39 ± 0.92^{a}	$7.52 \pm 0.89^{a,}$	7.74 ± 0.82^{a}	7.52 ± 0.85^{a}
	9	6.73 ± 1.05^{b}	6.60 ± 1.04^{b}	6.80 ± 1.00^{b}	6.90 ± 0.89^{b}	6.93 ± 1.02^{b}	6.82 ± 0.90^{b}
	16	$7.37 \pm 1.00^{a,}$	7.23 ± 0.86^{b}	6.93 ± 1.23^{ab}	$6.83 \pm 1.34^{b,}$	6.30 ± 1.77^{b}	6.43 ± 1.55^{b}
	23	7.33 ± 0.80^{a}	7.27 ± 0.64^{b}	7.23 ± 0.90^{ab}	6.87 ± 1.04^{b}	6.78 ± 1.19^{b}	7.00 ± 0.95^{ab}

TS/4 °C = Tom-kha with added salt stored at 4 ± 2 °C; TS/RT = Tom-kha with added salt stored at ambient temperature; Mean ± SD from thirty determinations

[a-c] Means within columns with a different letter in the same treatments are significantly difference ($p<0.05$)

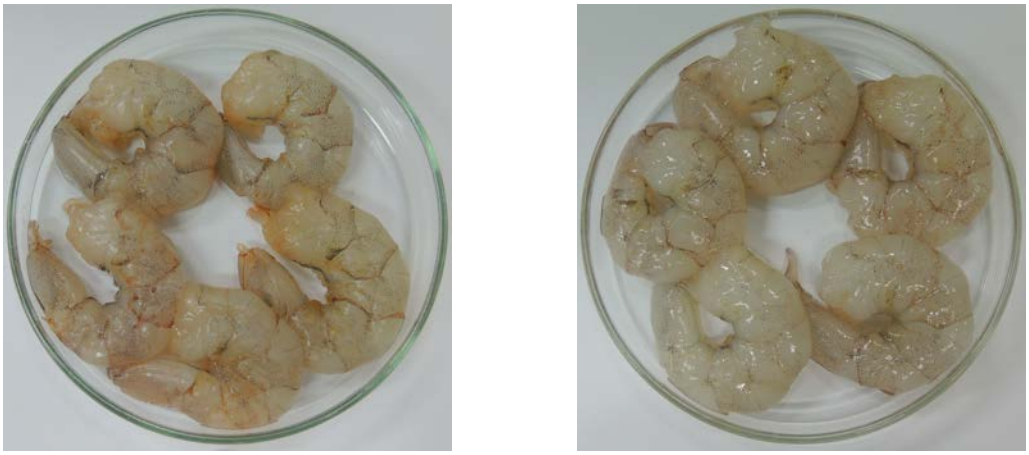
จากการทดลองพบว่าเครื่องต้มข่าเติมเกลือร้อยละ 8 เก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ เป็นชุดการทดลองที่ดีที่สุด โดยประเมินจากการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์และการยอมรับทาง ประสาทสัมผัส กล่าวคือการเติมเกลือร้อยละ 8 ลงในเครื่องต้มข่าและเก็บรักษาที่ 4 ± 2 °ซ สามารถควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งที่ชอบอากาศและไม่ชอบอากาศได้ อย่างมีประสิทธิภาพ (8.10×10^2 และ 2.30×10^3 โคโลนีต่อกรัมของเครื่องต้มข่า ตามลำดับ) และตรวจไม่พบ Coliform, *E.coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *C. perfringens*, *S. aureus* และ *B.cereus* และมีการยอมรับทางประสาทสัมผัสในทุกคุณลักษณะมากกว่า 6.87 ซึ่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับทุกชุดการทดลอง

7. การเปลี่ยนแปลงของผลิตภัณฑ์กุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

กุ้งขาวแวนนาไมขนาด 60-70 ตัว/ กิโลกรัม ที่ปอกเปลือก เด็ดหัวและเอาไส้ออก มีน้ำหนักเนื้อกุ้งคิดเป็นร้อยละ 50-55 ของน้ำหนักกุ้งขาวทั้งตัวและเมื่อนำเนื้อกุ้งขาวแช่ในสารละลายฟอสเฟต (โซเดียมโพลีฟอสเฟต ร้อยละ 2) ทำให้เนื้อกุ้งมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นร้อยละ 10-15 ดัง Table 46 และมีความขาว สว่างมากขึ้น (Figure 51) เนื้อกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้น 6.52±0.02 หลังแช่สารละลายโซเดียมฟอสเฟตเนื้อกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เพิ่มขึ้นเป็น 6.55±0.02 สำหรับเครื่องต้มข่าที่นำมาหมักกับกุ้งมีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.90±0.01 ซึ่งจัดว่าเป็นอาหารที่เป็นกรดต่ำ

Table 46. Yield of Litopenaeus vannamei shrimp

	Treatment	Weight (g)	Yield (%)
1.	Whole shrimp	1000	100
2.	Peeled and cool head white shrimp	533.10±23.74	53.31±2.37
3.	Shrimp after immersing in a solution of sodium polyphosphate	580.43±52.28	58.04±5.23



(C) (Phos)

Figure 51. *Litopenaeus vannamei shrimp* before immersing in a solution of sodium polyphosphate (C) and after immersing in a solution of sodium polyphosphate (Phos).

7.1 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพของผลิตภัณฑ์กุ้งมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

7.1.1 ค่าสีของกุ้งมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

นำกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งขาวไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T3 และT5) และกุ้งขาวหมักเครื่องต้มข่า (T2, T4 และT6) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลาต่างๆ มาล้างผ่านน้ำเพื่อล้างเครื่องต้มข่าออก พบว่า สีของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าคล้ำกว่าสีของกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) เมื่อเก็บรักษานานขึ้นเนื้อกุ้งมีสีส้มปนเขียวชัดขึ้น อาจพิจารณาเนื่องจาก (1) สารให้สีในเครื่องต้มข่า (เบตาแคโรทีน ฟลาโวนอยด์และโคโรฟิลล์) ซึมผ่านเข้าไปในชั้นเนื้อเยื่อกุ้ง (2) สารประกอบฟีนอลิกเกิดการทำปฏิกิริยากับโปรตีนได้สารประกอบที่มีสีคล้ำ แสดงดัง Figure 52

จากการวัดสีด้วยระบบ L*, a* และ b* ของกุ้งขาวที่มาริเนทและไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บในสภาวะต่างๆ ที่ 4 °C พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของกุ้งขาว ซึ่งวัดที่ตำแหน่งปล้องที่ 2 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (Figure 53 (a)) ในขณะที่ค่าความเป็นสีแดง (a*) ในกุ้งขาวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลอง ส่วนชุดที่หมักด้วยเครื่องต้มข่า (T2, T4 และT6) มีค่าลดลงหลังการเก็บรักษานาน 8 วัน ยกเว้นชุดการทดลองที่ 2 ซึ่งเป็นกุ้งหมักเครื่องต้มข่าและเก็บในสภาวะอากาศปกติ (Figure 53 (b)) อย่างไรก็ตามพบว่า เมื่อเก็บนานขึ้น ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะชุดการทดลองที่เป็นกุ้งขาวหมักด้วยเครื่องต้มข่า ซึ่งสูง

กว่ากุ้งขาวที่ไม่หมักด้วยเครื่องต้มข่า ส่งผลให้กุ้งขาวที่หมักด้วยเครื่องต้มข่ามีค่าความเป็นสีส้ม-ส้มเหลือง ซึ่งลักษณะที่เกิดขึ้นอาจเป็นผลมาจากการปลดปล่อยสารประกอบคาร์โรทีนจากโครงสร้างของโปรตีน ซึ่งสภาพปกติจะอยู่ในรูปสารประกอบคาร์โรทีโนโปรตีน (Caroteno-protein) โดยปรากฏการณ์ดังกล่าวจะเกิดขึ้นได้เมื่อโปรตีนของกุ้งถูกทำลายด้วยการให้ความร้อนหรือถูกย่อยด้วยกรดหรือแม้แต่การย่อยสลายของเอนไซม์ที่มีอยู่ในตัวกุ้งเอง (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

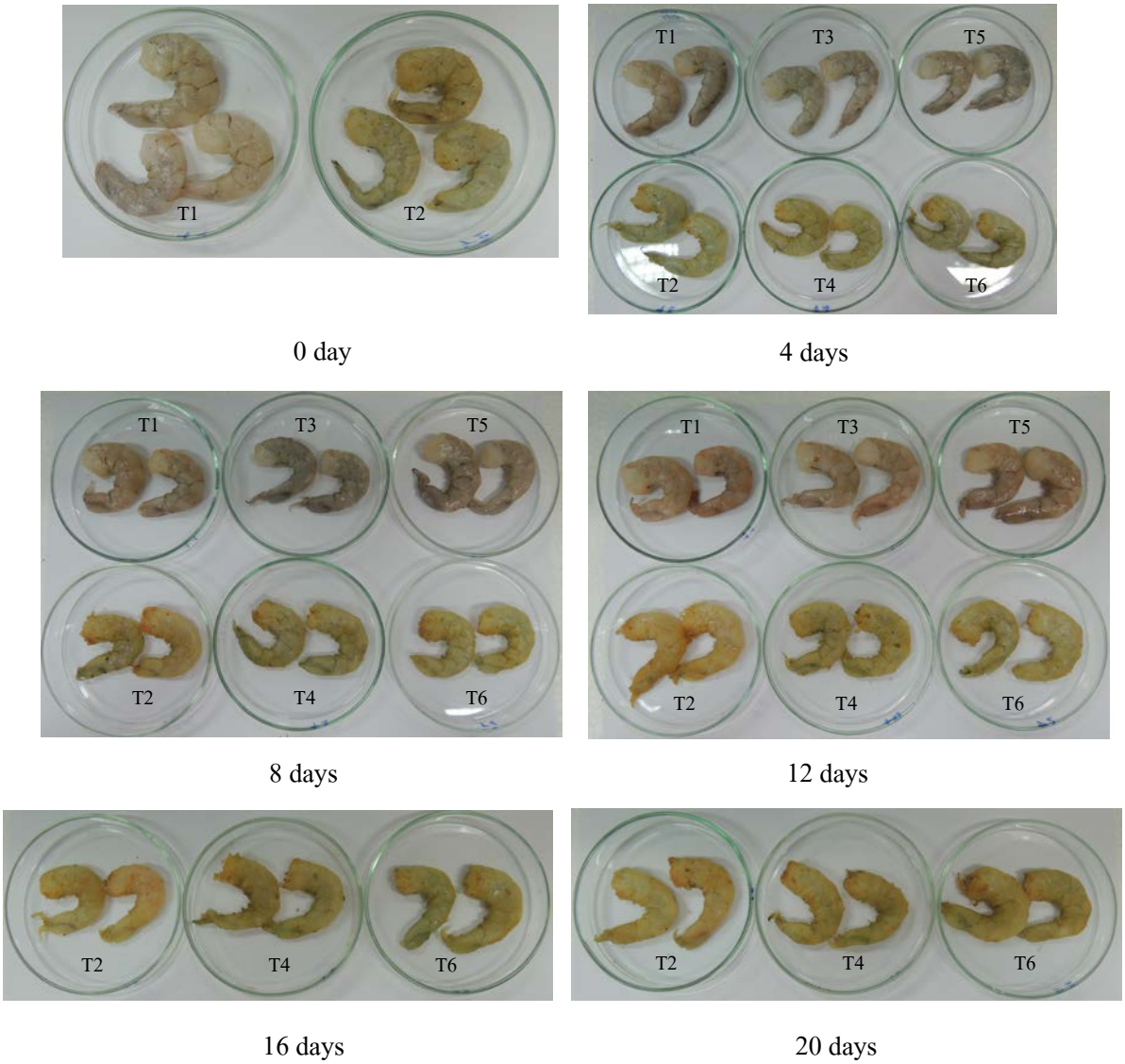


Figure 52. Shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark T1: without marinated with Tom-kha paste and kept under normal air served as control

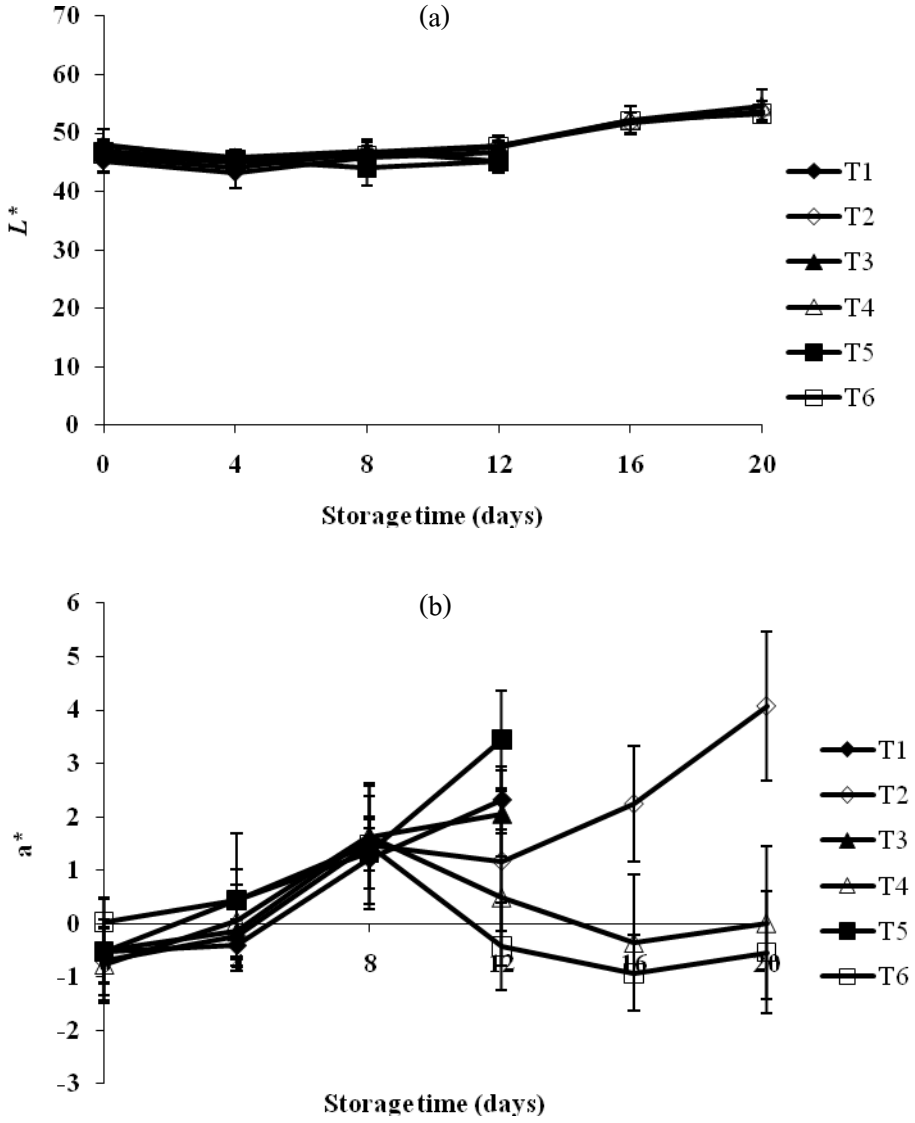
T2: marinated with Tom-kha paste and kept under normal air

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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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



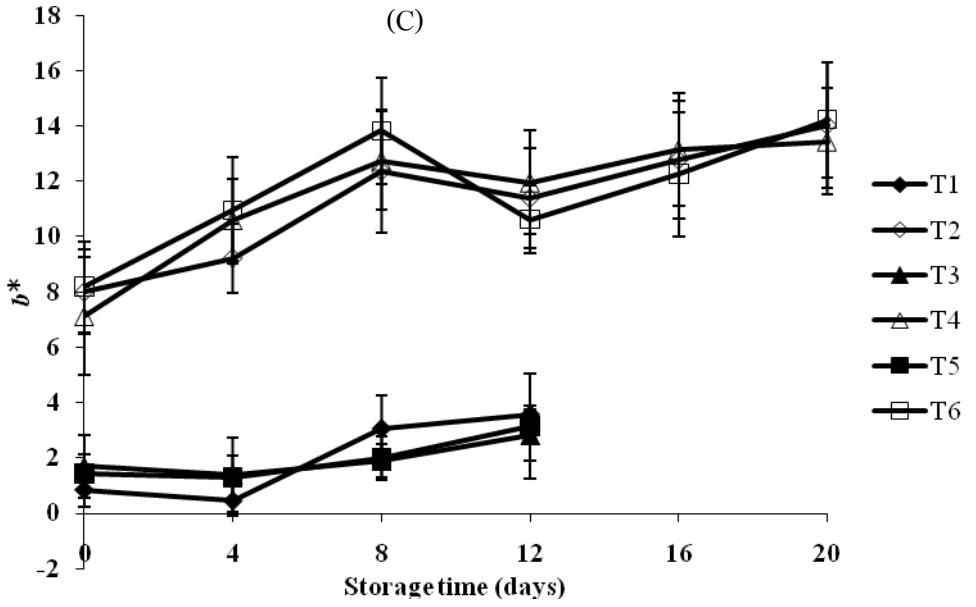


Figure 53. Changes in L* values a* values and b* values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.2 ค่าความเป็นกรด –ด่าง (pH) ของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

ค่าความเป็นกรด-ด่างของกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T3 และT5) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลา 12 วัน มีค่าอยู่ในช่วง 6.32-6.87 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ (T2, T4 และT6) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ มีค่าอยู่ในช่วง 5.60-6.50 เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างของกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทั้ง 3 สภาวะมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยตั้งแต่วันที่ 12 จนสิ้นสุดอายุของการเก็บรักษาที่ 20 วัน ทั้งนี้อาจเป็นผลมา

จากอิทธิพลของการเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศและการหมักด้วยเครื่องต้มข่ามีผลทำให้เกิดการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (Pakawatchai *et al*., 2009)

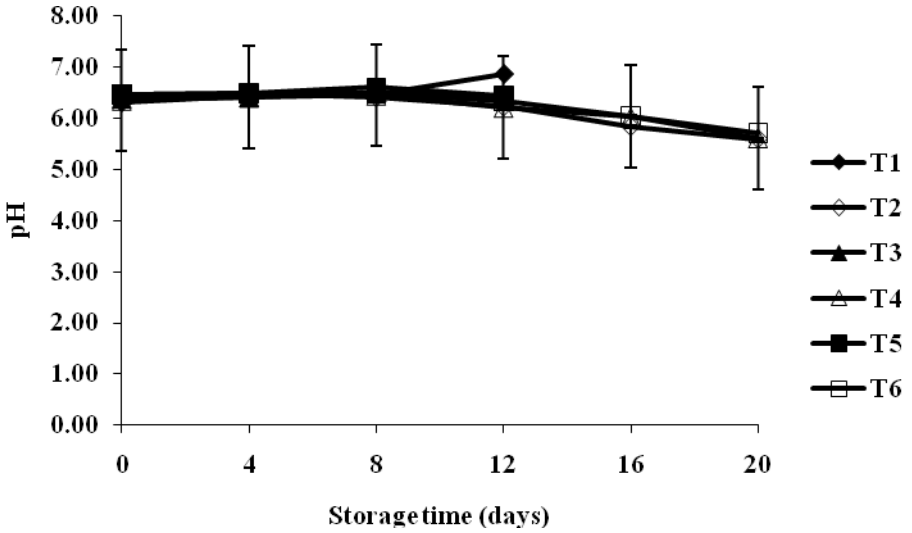


Figure 54**.** Marination effect on pH of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.3 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) ของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (a_w) เป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลอย่างมากต่อคุณภาพและการเน่าเสียของอาหาร เพราะความชื้นในอาหารและค่า a_w จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาทางเคมีหรือปฏิกิริยาที่เร่งด้วยเอนไซม์อย่างช้าๆ และมีการเจริญของจุลินทรีย์เกิดขึ้น ซึ่งเป็นต้นเหตุที่ทำให้อาหารเน่าเสีย (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) ดังนั้นอาหารสด ได้แก่ ผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์เช่น เนื้อหมู ไก่ เนื้อวัว นม ไข่ ไส้กรอกสุกเช่น ไส้กรอกแฟรงค์เฟอร์เตอร์ ขนมปัง เป็นอาหารที่เน่าเสียง่ายเนื่องจากมีค่า a_w มากกว่า 0.85 จากการทดลองแสดงให้เห็นว่ากุ้งหมัก/ไม่หมัก

เครื่องต้มข่ามีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.99-0.98 ไม่ว่าจะเก็บในสภาวะใด (Figure 55) จึงง่ายแก่การเน่าเสีย หรืออาจกล่าวได้ว่าค่า a_w ของตัวอย่างในการทดลองนี้ไม่ต่ำพอจะเป็นปัจจัยควบคุมการเน่าเสีย

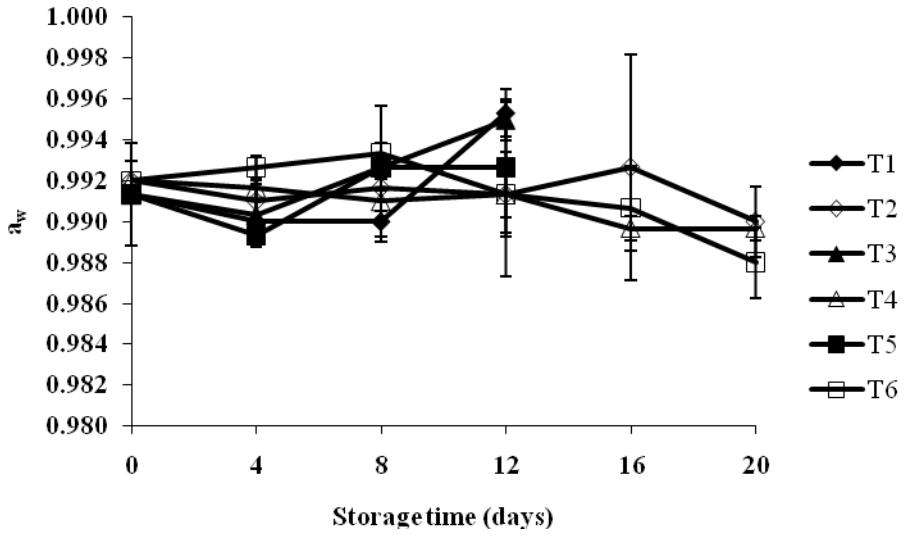


Figure 55. Marination effect on water activity (a_w) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.4 ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) เริ่มต้นของกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุในถุง Nylon/LLDPE ในสภาวะที่แตกต่างกัน แสดงดัง Figure 56 พบว่า การหมักหรือไม่หมักเครื่องต้มข่าและการเก็บในสภาวะอากาศปกติหรือดัดแปลงบรรยากาศไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณความชื้นโดยค่าความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 80-82 ทั้งนี้อาจเนื่องจากทุกชุดการทดลองเป็นอาหารสดและเก็บรักษาในภาชนะที่ปิดสนิท ซึ่งมีสมบัติในการมีค่าทนการซึมผ่านของอากาศ

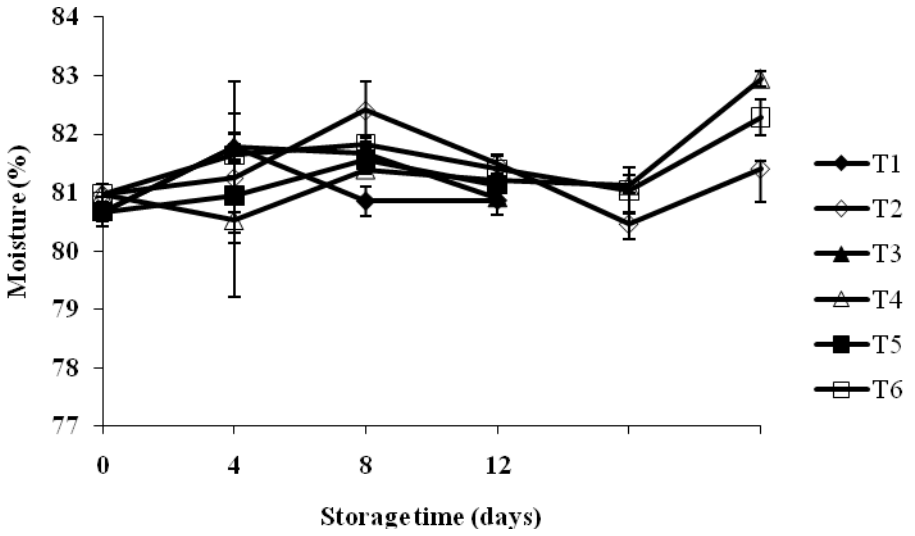


Figure 56. Marination effect on moisture content (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.5 การสูญเสียน้ำหนักของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (Drip loss)

การสูญเสียน้ำหนักของเนื้อกุ้งเป็นผลมาจากการสูญเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีนทั้งจากสาเหตุของเอนไซม์ย่อยโปรตีนที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อกุ้งและการทำงานของจุลินทรีย์ จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น กุ้งขาวทุกชุดการทดลองมีการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะกุ้งขาวชุดควบคุมและกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บแบบดัดแปลงบรรยากาศมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่ากุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (Figure 57) เมื่อเก็บรักษานาน 12 วัน โดยวันที่ 0 ของการเก็บรักษา เนื้อกุ้งขาวชุดควบคุมมีการสูญเสียน้ำหนักร้อยละ 5.86 และเมื่อเก็บเป็นเวลา 12 วัน เนื้อกุ้งสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นเป็น 10.31 เมื่อเปรียบเทียบกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าแต่เก็บในสภาวะที่แตกต่างกัน (T2, T4 และT6) พบว่า การเก็บรักษาในสภาวะที่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์สูงกว่า (T6) มีแนวโน้มที่จะมีการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่าการเก็บที่สภาวะอื่น (T2 และ T4) แม้ว่าเมื่อเก็บรักษานาน 20 วัน พบว่าการสูญเสียน้ำหนักไม่

แตกต่างกัน Masniyom (2004) รายงานว่าแม้การบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศส่งผลให้ควบคุมการเน่าเสียของผลิตภัณฑ์ปลากะพงขาวแล่ได้ แต่ส่งผลให้การสูญเสียน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นจากการเกิดกรดคาร์บอนิกในกล้ามเนื้อกุ้งมีผลให้โปรตีนมีการเสียสภาพมากขึ้น Siripongvutikorn และคณะ (2012) รายงานว่า ค่าการสูญเสียน้ำหนักของกุ้งขาวที่หมักด้วยเครื่องต้มยำมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการเกิดกรดคาร์บอนิกในกล้ามเนื้อกุ้งมีผลให้โปรตีนมีการเสียสภาพมากขึ้น

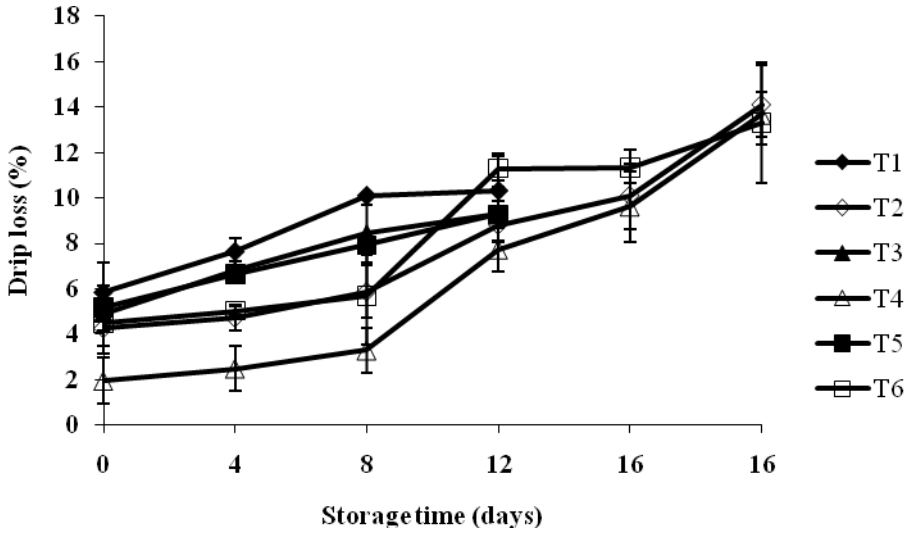


Figure 57. Marination effect on drip losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.6 การสูญเสียน้ำหนักของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าหลังการให้ความร้อน (Cooking loss)

เมื่อนำกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T2) และกุ้งที่

มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) บรรจุในถุง nylon/LLDPE (ทนความร้อนได้ 110-130 องศาเซลเซียส) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลาต่างๆ ไปให้ความร้อนในอ่างควบคุมอุณหภูมิ จนกระทั่งเนื้อกุ้งมีอุณหภูมิ 80°ซ เป็นระยะเวลา 2 นาที พบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การสูญเสียน้ำหนักหลังให้ความร้อนเพิ่มขึ้นทุกชุดการทดลอง โดยพบว่าที่สภาวะการบรรจุแบบเดียวกัน กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่ามีค่าการสูญเสียน้ำหนักหลังให้ความร้อนน้อยกว่ากุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทุกชุดการทดลองดัง Figure 58 ซึ่งการสูญเสียน้ำหนักหลังการให้ความร้อนของเนื้อกุ้งเกิดจากความร้อน ทำให้โปรตีนในเนื้อกุ้งเสียสภาพ น้ำอิสระบางส่วนในเนื้อกุ้งถูกปลดปล่อยออกมา ทำให้มีค่าการสูญเสียน้ำหนักเพิ่มขึ้นและทำให้กุ้งมีขนาดเล็กลง ตัวงอ มีเนื้อสัมผัสแข็ง สีเนื้อเปลี่ยนจากสีน้ำเงินหรือเทาอมน้ำเงินจากสารแอสตาแซนทิน (Astaxanthin) ซึ่งรวมตัวอยู่กับโปรตีนถูกปลดปล่อยเมื่อโปรตีนเสียสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้สีแดงของแคโรทีนอยด์อิสระปรากฏเด่นชัดขึ้น (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

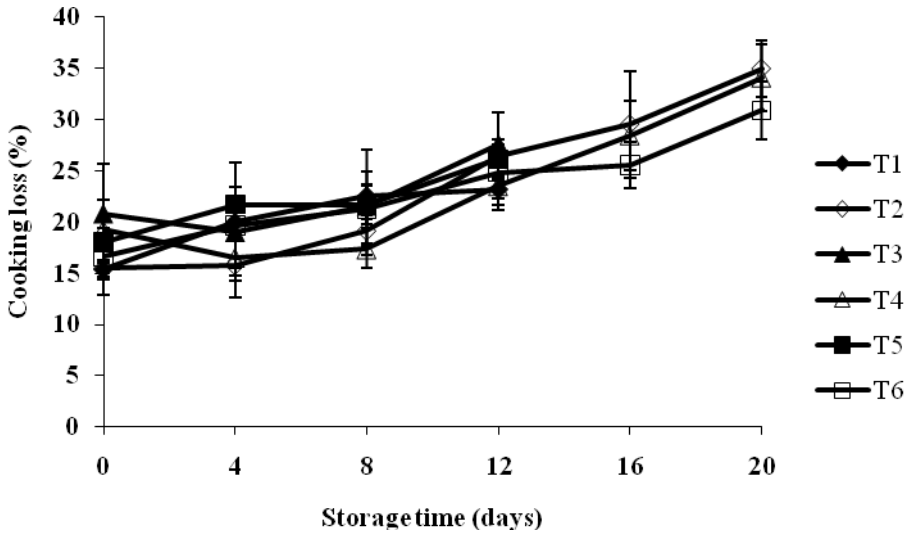


Figure 58. Marination effect on cooking losses (%) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.7 ลักษณะเนื้อสัมผัสของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

ความแน่นเนื้อ (Firmness) เป็นสมบัติด้านเนื้อสัมผัส (Texture properties) ของอาหาร ความแน่นเนื้อ (Firmness) ความแข็ง (Hardness) และความนุ่ม (Softness) เป็นกลุ่มคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัสประเภทเดียวกัน จากการศึกษาพบว่าค่าความแน่นเนื้อของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่ามีค่าสูงกว่าชุดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (p<0.05) (Figure 59) Barbut (1993) รายงายว่าเนื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ มีความนุ่มลดลง การลดลงของค่าแรงเฉือนที่เกิดจากการมาริเนทมีความแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ โดยในสัตว์บางชนิดพบว่าการมาริเนทอาจส่งผลให้ตัวอย่างแข็งขึ้น ในขณะที่อาจทำให้อีกตัวอย่างนุ่ม (Sheard, 1999) โดยความนุ่มของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการมาริเนทโดยเฉพาะในเนื้อวัว หมู หรือเนื้อที่มีคอลลาเจนสูง เกิดจากการทำงานร่วมกันของความเป็นกรด-ด่าง เอนไซม์ในกล้ามเนื้อ ได้แก่ cathepsin และ calpain ชนิดของเส้นใยกล้ามเนื้อ ชนิดและปริมาณของคอลลาเจน (Koohmaraie, 1996) โดย Cathepsin และ calpain ทำงานดีขึ้นที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.0-4.5 และ 6.5-7.0 ตามลำดับ (Cheret *et al*., 2007) การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่า การมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าเป็นปัจจัยที่สำคัญเหนี่ยวนำให้เกิดการรวมตัวกันของโปรตีนจากการทำงานของกรด (pH ที่ต่ำลง) และ / หรือการทำงานของสารประกอบฟีนอลลิกที่ทำปฏิกิริยากับโปรตีน ทำให้ความแน่นเนื้อเพิ่มขึ้น

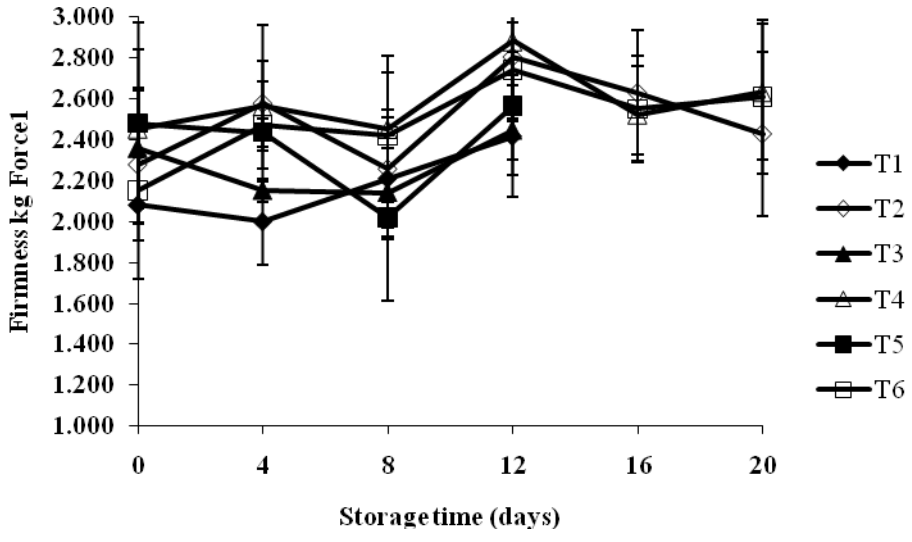


Figure 59. Marination effect on texture (Firmness) of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.1.8 โครงสร้างทางจุลภาคของกุ้งขาวมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า

Figure 60 ซึ่งเป็นภาพตัดตามขวางในวันที่ 0 ของกุ้งขาวชุดควบคุมที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (T1) และเปรียบเสมือนคุณภาพเริ่มต้นของกุ้งหลังการแช่สารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟต พบว่าช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อและภายในมัดกล้ามเนื้อมีเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากสารละลายโซเดียมโพลีฟอสเฟตทำให้แอคโตไมโอซินแยกออกจากกันจึงทำให้โครงร่างตาข่ายเส้นใยเกิดการพองตัว (Ruusunen and Poulanne, 2005) แต่เมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้น พบว่า กุ้งขาวชุดควบคุมที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (T1, T3 และT5) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อและภายในมัดกล้ามเนื้อเพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะชุดควบคุม (T1) เกิดช่องว่างภายในมัดกล้ามเนื้อและระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด ทั้งนี้เป็นผลมาจากการย่อยสลายกล้ามเนื้อด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในกุ้งและจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมา เมื่อเรียงลำดับการเกิดช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อของกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า พบว่า T1 > T5 > T3 (Figure 61-63)

ผลของเครื่องต้มข่าต่อโครงสร้างทางจุลภาคของกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า (กำลังขยาย 300 เท่า) แสดงดัง Figure 64-68 พบว่า การเก็บรักษาที่สภาวะต่างกันและอายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบปกติ (T2) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อมากที่สุด รองลงมาคือกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 40: 5: 55 (T4) และกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุในสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ที่มีอัตราส่วนของแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์: แก๊สออกซิเจน: แก๊สไนโตรเจน เท่ากับ 50: 5: 45 (T6) มีช่องว่างระหว่างมัดกล้ามเนื้อน้อยที่สุด แสดงให้เห็นว่าสภาวะการบรรจุเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางจุลภาคของกุ้ง ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า ปริมาณแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ที่เพิ่มขึ้นสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในกล้ามเนื้อกุ้ง (endogenous enzyme) และเอนไซม์ที่มาจากการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (exogenous enzyme) ส่งผลให้การย่อยสลายของโปรตีนลดลง

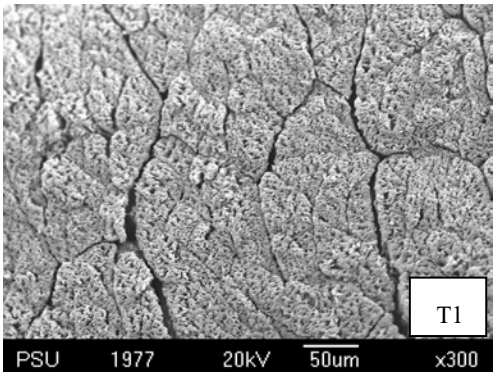


Figure 60. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste (control) at 0 day.

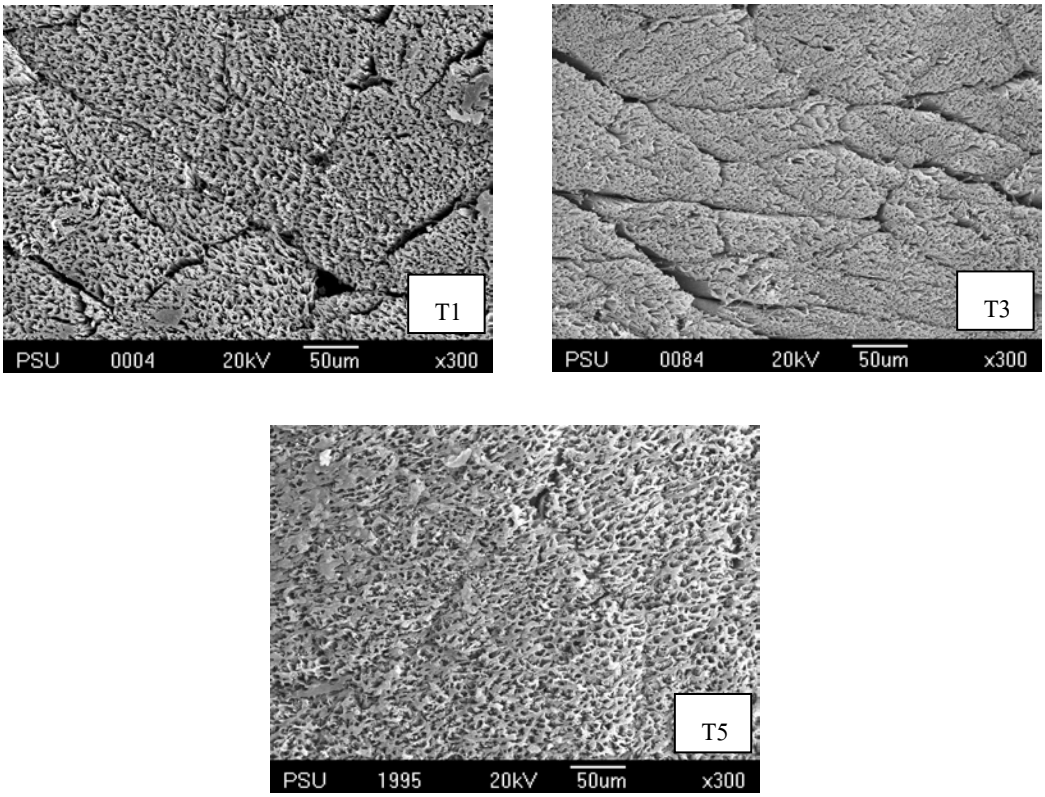


Figure 61. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 4 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

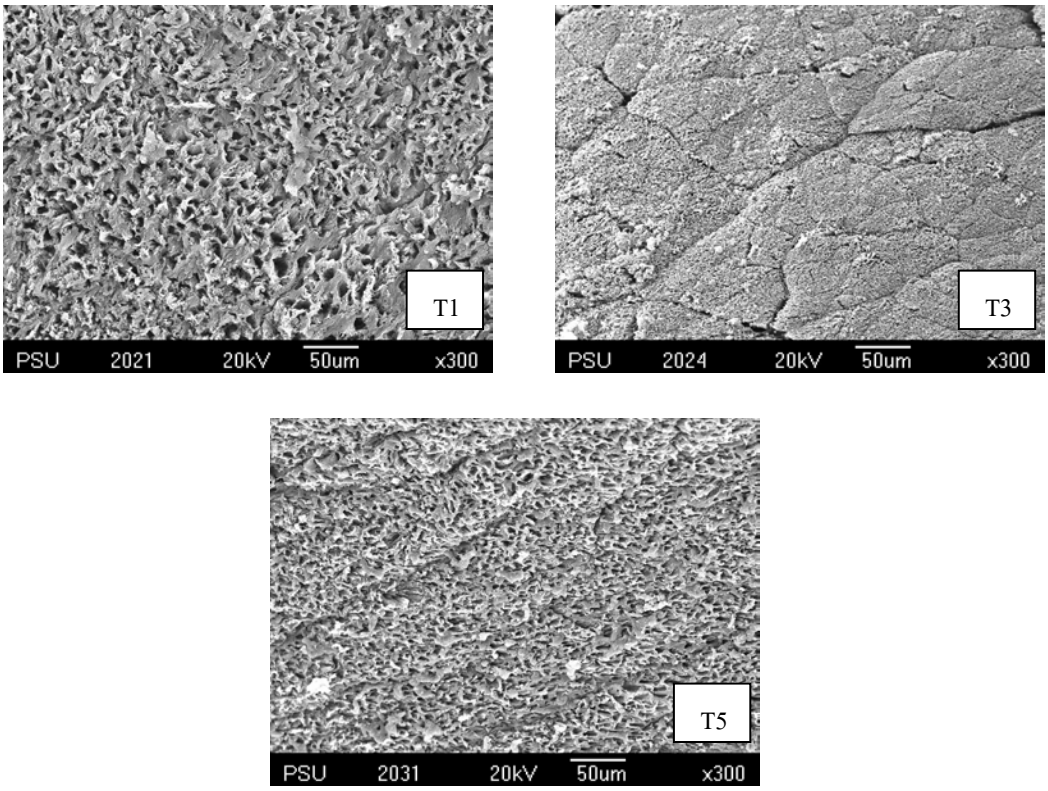


Figure 62. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 8 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

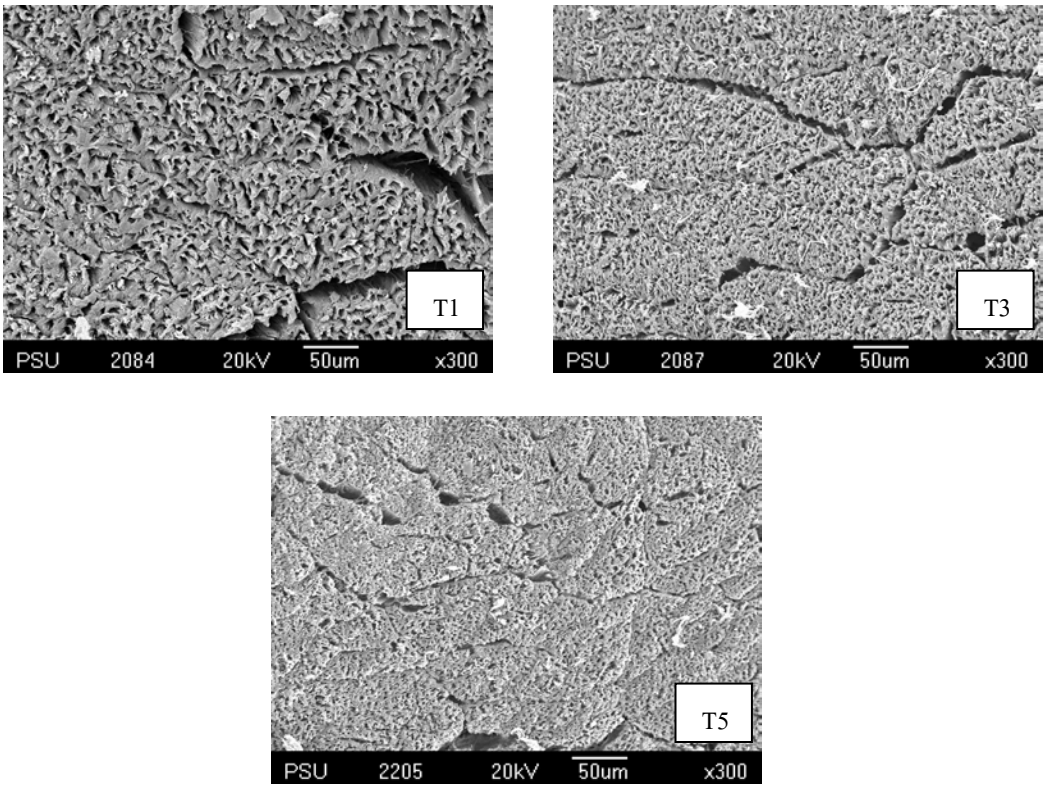


Figure 63. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp without marinated Tom-kha paste at 12 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

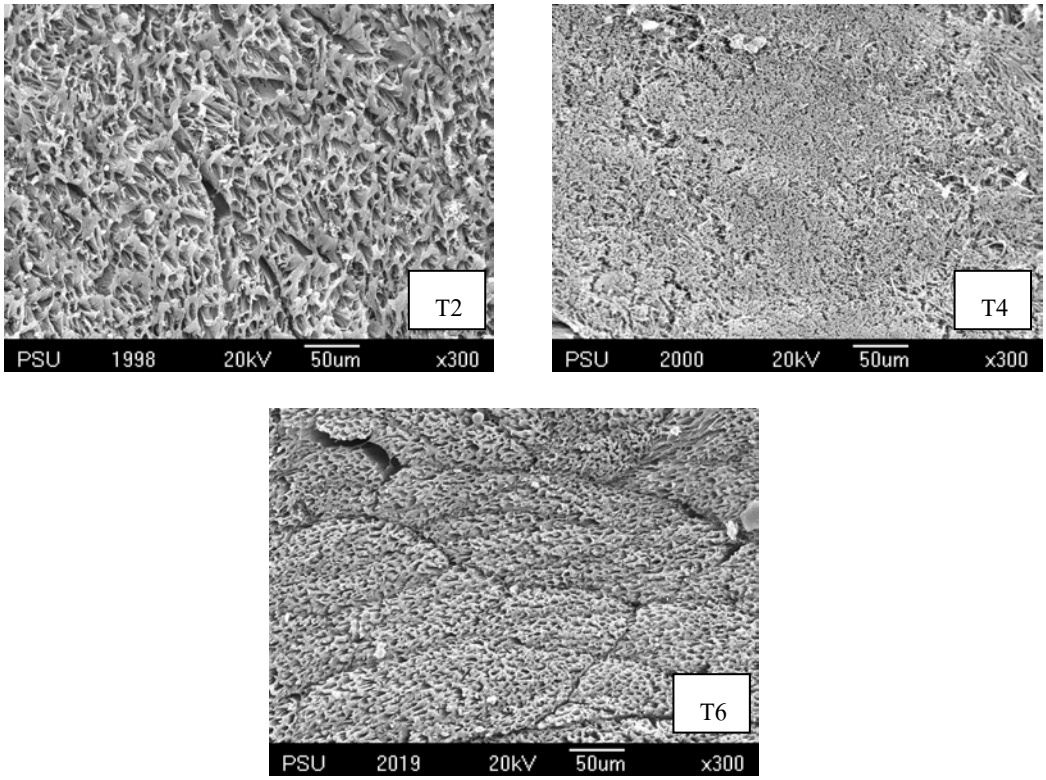


Figure 64. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 4 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

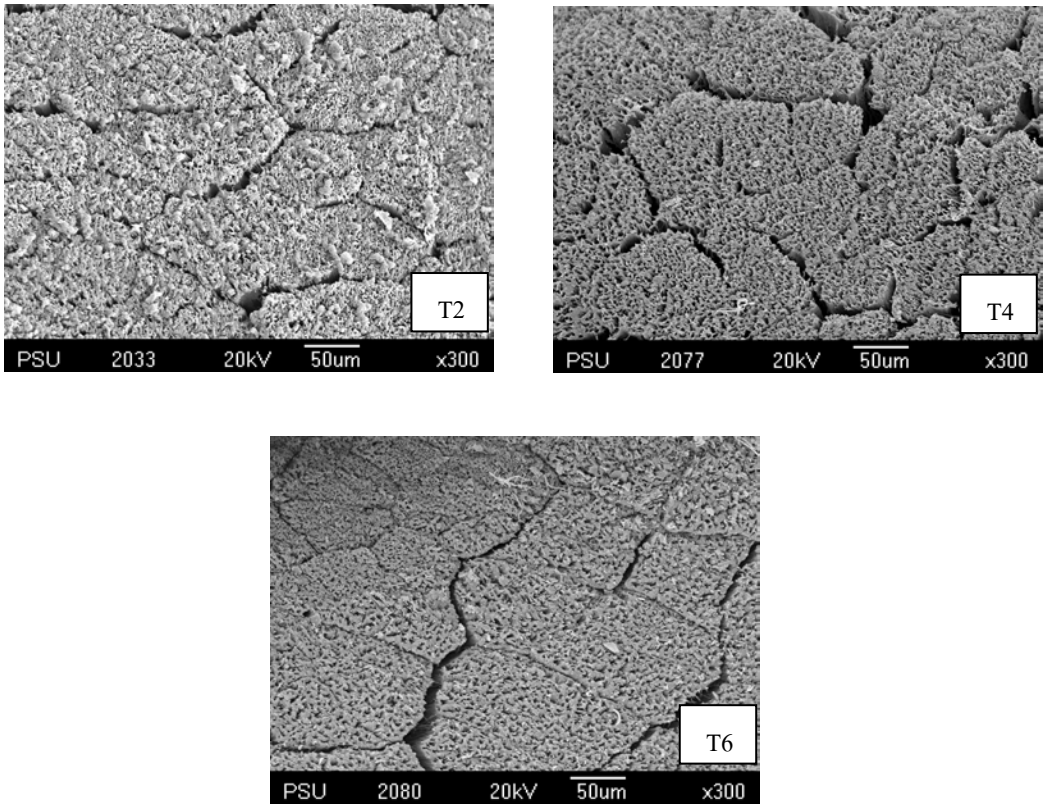


Figure 65. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 8 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

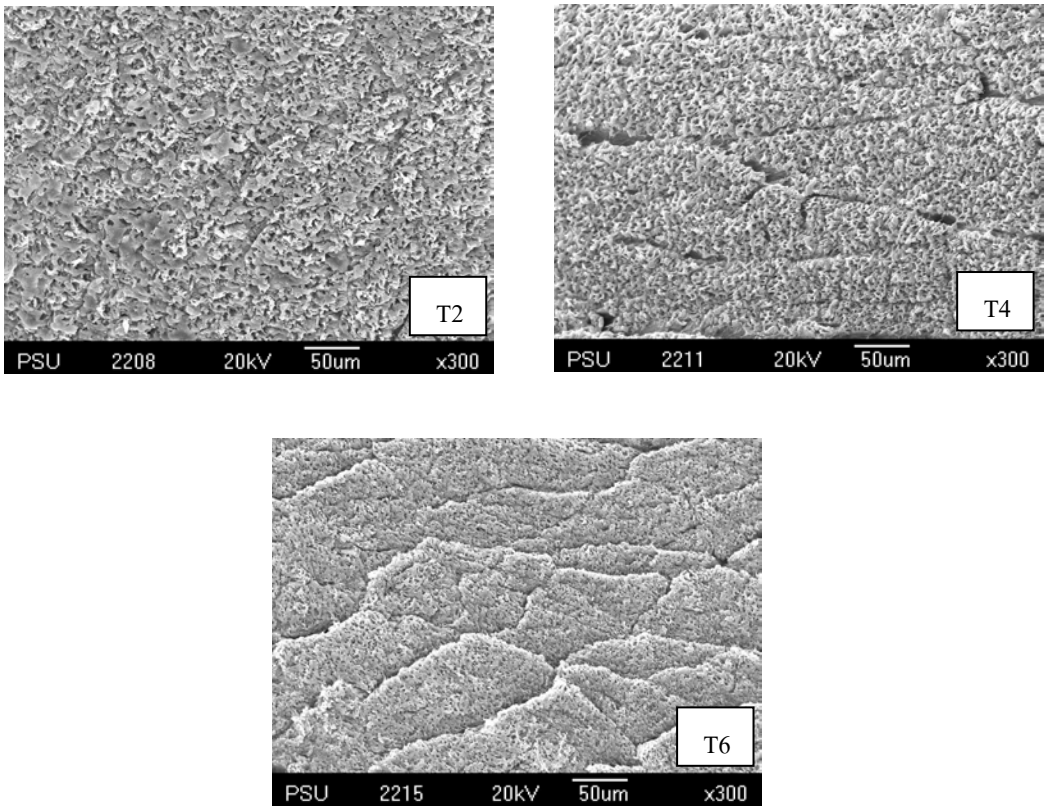


Figure 66. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 12 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

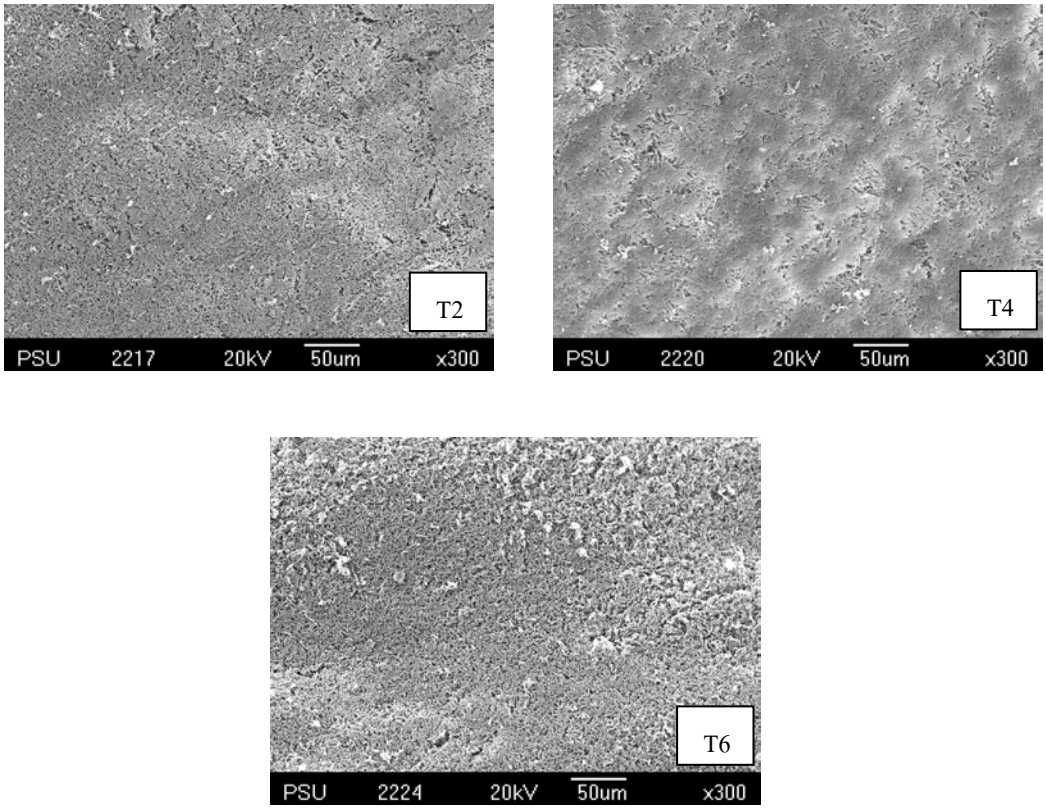


Figure 67. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

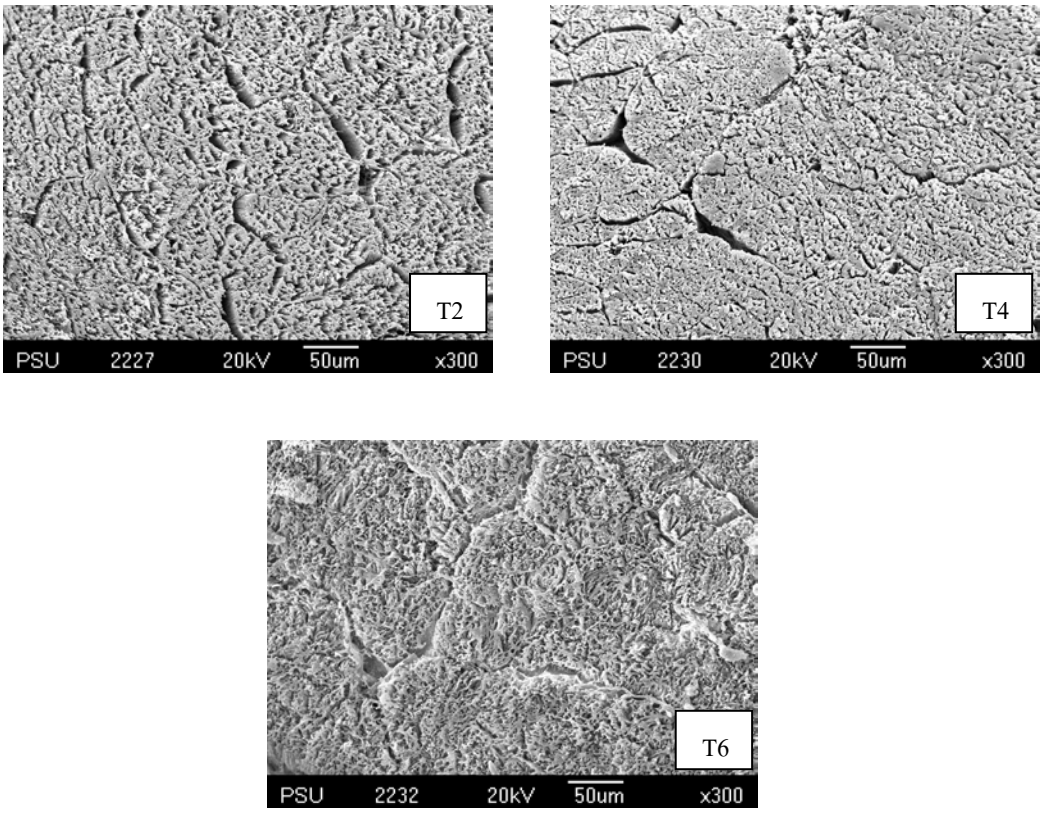


Figure 68. SEM micrographs of transverse orientation of shrimp marinated with Tom-kha paste at 16 days.

Remark All legends are corresponding to legends showed in Table 12.

7.2 การเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

7.2.1 ปริมาณด่างที่ระเหยได้ (TVB) ทั้งหมดและไตรเมทธิลอะมีน (TMA)

ค่า TVB เป็นดัชนีบอกความสดของสัตว์น้ำได้ โดยถ้าค่า TVB ต่ำกว่า 20 mg N/100 g ตัวอย่าง ถือว่ามีความสดมาก ค่า TVB ที่เกินกว่า 30 mg N/100 g ตัวอย่าง จะเริ่มไม่สด ถ้าค่า TVB 40 mg N/100 g ตัวอย่าง เป็นคุณภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค (สุทธวัฒน์ เบญจกุล และไพรัตน์ โสภโณดร, 2544) จากผลการทดลอง พบว่า ในวันแรกของการเก็บรักษา กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB 6.02 mg N/100 g ตัวอย่าง ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T2) มีค่า TVB 6.31 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่าชุดควบคุม (T1) เล็กน้อย (Figure 69) แต่เมื่อถึงวันที่ 8 ของการเก็บรักษา พบว่า กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB เพิ่มขึ้นเป็น 22.61 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบเริ่มไม่สด ส่วนกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 6-8 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบยังมีความสด ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทุกสภาวะการบรรจุ ที่เก็บเป็นระยะเวลา 8 วัน มีค่า TVB อยู่ในช่วง 7-11 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบยังมีความสด ส่วนวันที่ 12 ของการเก็บรักษา พบว่า กุ้งขาวชุดควบคุม (T1) มีค่า TVB 56.93 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค ส่วนกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ (T3 และ T5) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 22-25 mg N/100 g ตัวอย่าง เป็นระดับที่แสดงให้ทราบว่าวัตถุดิบเริ่มไม่สด ในขณะที่กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T2) มีค่า TVB 41.77 mg N/100 g ตัวอย่าง ซึ่งเป็นระดับที่ไม่เหมาะสมต่อการบริโภค และกุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) มีค่า TVB อยู่ในช่วง 10-14 mg N/100 g ตัวอย่าง ถือว่าวัตถุดิบมีความสดมาก ดังนั้นหากพิจารณาเฉพาะค่า TVB ของกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าอาจกล่าวได้ว่ากุ้งยังคงความสดไว้นานกว่า 12 วัน (ประมาณ 20 วัน) โดยเฉพาะการเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ทั้งนี้อธิบายได้ว่าเครื่องต้มข่าและสภาวะการบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศไม่อำนวยต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศ ซึ่งเป็นจุลินทรีย์หลักในการทำให้อาหารเน่าเสียจึงส่งผลให้สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงค่า TVB ได้ดีกว่าการบรรจุแบบอากาศปกติ

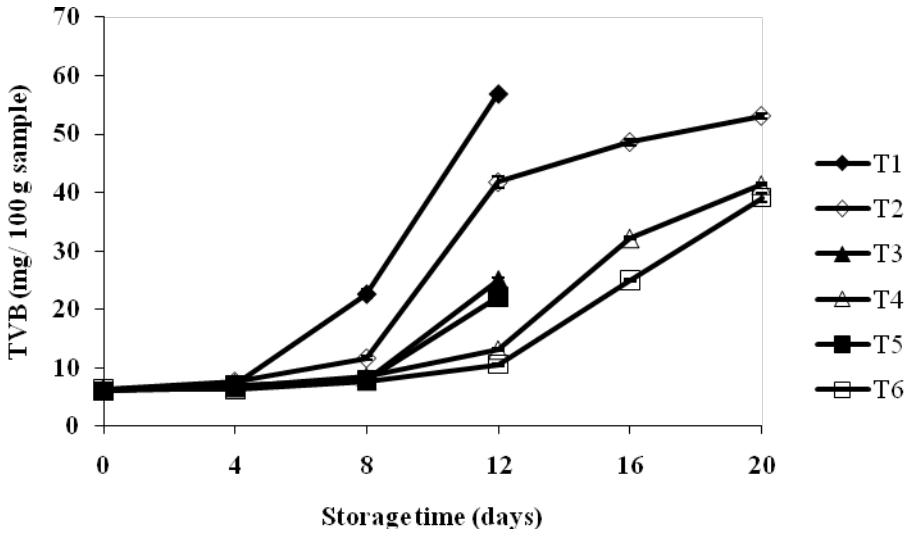


Figure 69. Marination effect on TVB-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

ผลจากการทดลองตรวจไม่พบ TMA ซึ่งวิเคราะห์โดยวิธี Conway ในช่วง 0-4 วันแรกของการเก็บรักษาในทุกชุดการทดลอง (Figure 70) อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษานาน 12 วันพบว่า ชุดควบคุม (T1) มีการเพิ่มขึ้นของค่า TMA มากที่สุด (1.21 mg/ 100 g sample) รองลงมาคือ กุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บรักษาที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ T3 (0.81 mg/ 100 g sample) และ T5 (0.54 mg/ 100 g sample) ตามลำดับ ในขณะที่การมาริเนทกุ้งขาวร่วมกับการเก็บรักษาที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศพบว่า สามารถควบคุมการเพิ่มขึ้นของค่า TMA ได้อย่างชัดเจน (T4 และ T6) ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นผลมาจากการทำงานร่วมกันระหว่างสมบัติการต้านการเจริญของจุลินทรีย์ที่ได้จากสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเครื่องต้มข่าและการลดโอกาสการเจริญของจุลินทรีย์โดยการลดปริมาณออกซิเจนและการเพิ่มปริมาณของคาร์บอนไดออกไซด์ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วในประเด็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณด่างที่ระเหยได้ทั้งหมด

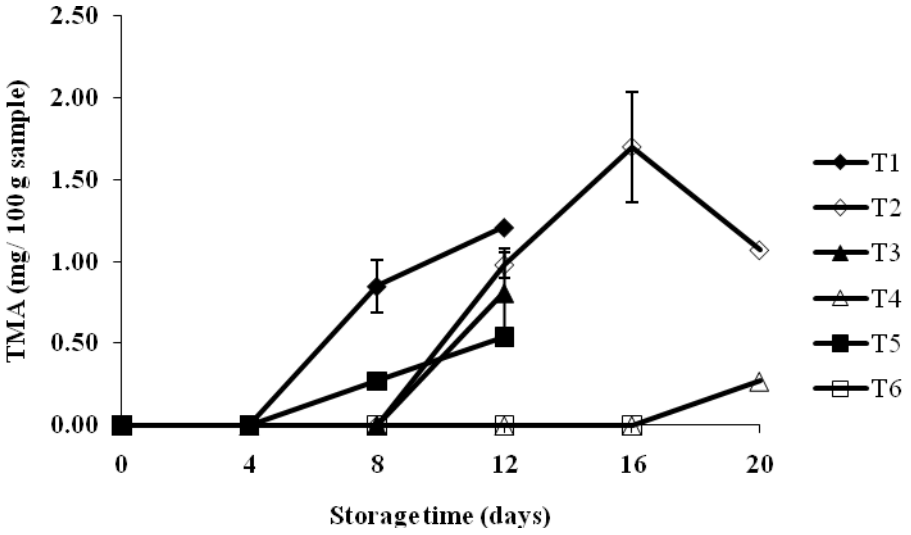


Figure 70. Marination effect on TMA-N value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.2.2 การเกิดกลิ่นหืนของไขมัน (TBARS)

TBARS เป็นสารมีสี ได้จากการทำปฏิกิริยาของกรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid) กับมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malonaldehyde, MDA และหรือ aldehyde) ซึ่งเป็นผลผลิตจากการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ปริมาณของ TBARS วัดจากความเข้มข้นของสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร โดยค่าความเข้มของสีจะแปรผันตามปริมาณไขมันที่ถูกออกซิไดส์ (สุทธวัฒน์ เบญจกุลและไพรัตน์ โสภโณดร, 2544) นั่นคือ ถ้าความเข้มของสีมากขึ้นแสดงว่า มีปริมาณไขมันที่ถูกออกซิไดส์มาก จากผลการทดลอง พบว่า ปริมาณ TBARS ในกุ้งขาวชุดควบคุม (T1) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลา 12 วัน มีค่าเท่ากับ 0.140-0.218 mg malonaldehyde/kg sample ส่วนกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศมีค่า TBARS อยู่ในช่วง 0.120-0.179 mg malonaldehyde/kg sample ขณะที่ปริมาณ TBARS ในกุ้งที่

มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทุกชุดการทดลองสูงกว่ากุ้งขาวชุดควบคุม (T1) และกุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T3, T5) ทั้งนี้อาจเนื่องจาก (1) การรบกวนของสีของเครื่องต้มข่าโดยเฉพาะสีของพริก (2) สารประกอบบางชนิดในสมุนไพร/เครื่องเทศที่เป็นองค์ประกอบในเครื่องต้มข่าสามารถทำปฏิกิริยากับสารประกอบ TBARS แล้วให้ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร (Figure 71) โดยค่า TBARS ในกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่ามีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา สอดคล้องกับ Siripongvutikorn และคณะ (2012) ซึ่งพบว่ากุ้งขาวที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มยำมีค่า TBARS สูงกว่ากุ้งขาวชุดควบคุม เมื่อระยะการเก็บรักษานานขึ้น Kilinc and Cakli(2004) รายงานว่าปลาซาร์ดีนที่หมักด้วยสารละลายกรดซิตริกมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามพบว่า ค่า TBARS ในทุกชุดการทดลองมีค่าน้อยมาก (ต่ำกว่า 2 mg malondialdehyde/kg sample) ทั้งนี้อาจเนื่องจากกุ้งมีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำ ดังนั้นการใช้ค่าความหืนจึงอาจไม่เหมาะสมต่อการตรวจสอบคุณภาพของกุ้งหรือผลิตภัณฑ์กุ้งบางชนิดที่ไม่มีส่วนผสมของไขมันหรือผ่านกระบวนการทอด

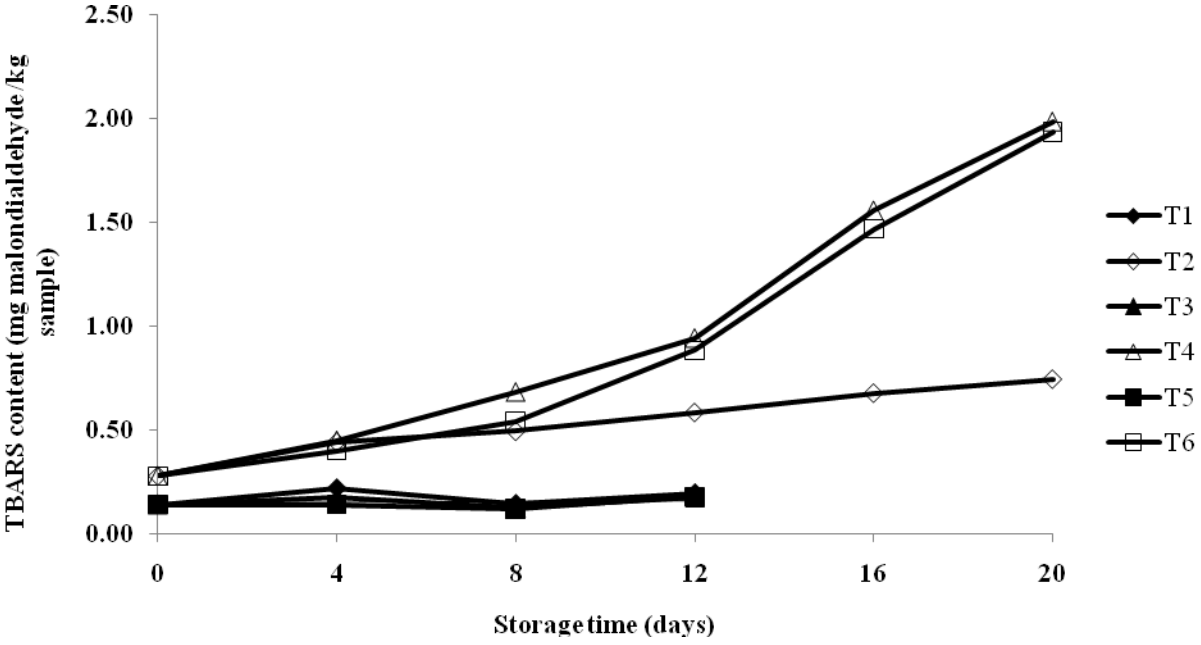


Figure 71. Marination effect on TBARS value of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Remark 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 50% CO_2, 5% O_2, 45% N_2

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

7.3 การเปลี่ยนแปลงทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ ในสภาวะการบรรจุต่างๆ

กุ้งขาวสดที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าในถุง Nylon/LLDPE บรรจุแบบปกติเป็นชุดควบคุม (T1) กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ด้วยแก๊สผสมระหว่าง CO_2: O_2: N_2 จำนวน 2 อัตราส่วน คือ 40: 5: 55 (T3) และ 50: 5: 45 (T5) กุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T2) และกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ด้วยแก๊สผสมระหว่าง CO_2: O_2: N_2 จำนวน 2 อัตราส่วน คือ 40: 5: 55 (T4) และ 50: 5: 45 (T6) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°ซ พบว่าวันที่ 0 ของการเก็บรักษา ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) ของทุกชุดการทดลองอยู่ในช่วง 2.6×10^4 และ 3.8×10^4 CFU/g (Table 47) เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ชุดควบคุม (T1) มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเร็วที่สุด รองลงมาคือ ชุดการทดลอง T2 ซึ่งเป็นกุ้งขาวมาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บในสภาวะปกติ และ T5 ซึ่งเป็นกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและเก็บที่สภาวะดัดแปลงบรรยากาศ ผลจากการทดลองพบว่า การควบคุมปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดเกิดขึ้นได้ดีเมื่อมีการมาริเนทกุ้งด้วยเครื่องต้มข่าร่วมกับการเก็บด้วยสภาวะดัดแปลงบรรยากาศ แสดงให้เห็นว่า การต้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพเกิดจากการทำงานร่วมกันระหว่างสารออกฤทธิ์ที่มีอยู่ในเครื่องต้มข่าและการดัดแปลงบรรยากาศ ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีโดยการวิเคราะห์ค่า TVB และ TMA

สำหรับการวิเคราะห์หาเชื้อ *E. coli* และจุลินทรีย์ก่อโรค ได้แก่ *S. aureus* พบว่าตรวจไม่พบการเจริญของ *E. coli* แต่ตรวจพบ *S. aureus* เล็กน้อย (3.6 MPN/g)ในตัวอย่างกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า แต่มีการตรวจพบ Coliform ในทุกชุดตัวอย่างและทุกสภาวะตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ยกเว้นวันแรกของการเก็บรักษา (วันที่ 0) ของกุ้งขาวที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่า โดยทั่วไป Coliform เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถพบในข่าและตะไคร้ (Siripongvutikorn, 2005; สุจิรา อายุสุข, 2553) โดยการปนเปื้อนทั้งจากทางตรงและทางอ้อม เช่น มีการปนเปื้อนจากดินที่ใช้ปลูก จากแมลงและสัตว์ต่างๆ (Baylis, 2006) นอกจากนี้กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2536) กำหนดมาตรฐานทางจุลชีววิทยาของอาหารดิบ (อาหารที่ยังบริโภคไม่ได้ต้องผ่านการทำสุกหรือการเตรียมด้วยกรรมวิธีใดๆ ก่อนบริโภค) กำหนดให้พบปริมาณ *E. coli* < 50 MPN/กรัม และ

S. aureus < 200/กรัม ซึ่งจากการทดลองพบว่า กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณของแบคทีเรียก่อโรคไม่เกินที่กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กำหนด

Table 47. Total viable count, Coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days.

Bacterial type	Treatment	Storage time (days)					
		0	4	8	12	16	20
Total viable count (CFU/g)	T1	2.6×10^4	5.5×10^5	2.2×10^8	6.1×10^8	-	-
	T2	3.8×10^4	9.2×10^4	2.2×10^8	1.7×10^8	3.8×10^7	3.1×10^8
	T3	2.6×10^4	9.5×10^4	1.9×10^7	2.1×10^8	-	-
	T4	3.8×10^4	5.1×10^4	2.1×10^6	1.8×10^7	2.1×10^6	3.0×10^8
	T5	2.6×10^4	1.2×10^5	1.0×10^8	2.3×10^8	-	-
	T6	3.8×10^4	5.8×10^4	6.9×10^6	9.0×10^6	6.9×10^6	3.0×10^8
Coliform (MPN/g)	T1	< 3	9.2	21	240	-	-
	T2	240	23	43	43	93	43
	T3	< 3	9.2	23	9.2	-	-
	T4	240	9.3	43	43	43	75
	T5	< 3	3.6	3.6	23	-	-
	T6	240	43	2.3	43	2.3	3.6

Table 47. Total viable count, Coliform, *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* in shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 20 days. (Continued)

Bacterial type	Treatment	Storage time (days)					
		0	4	8	12	16	20
Escherichia coli (MPN/g)	T1	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
	T3	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T4	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
	T5	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T6	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3
Staphylococcus aureus							
(MPN/g)	T1	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T2	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	3.6
	T3	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T4	< 3	< 3	3.6	3	3.6	< 3
	T5	< 3	< 3	< 3	< 3	-	-
	T6	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3	< 3

7.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์ต้มข่ากุ้ง

ผลการนำผลิตภัณฑ์กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่เก็บรักษาอุณหภูมิ 4°ซ เป็นระยะเวลา 0, 4, 8 และ 12 วัน ที่บรรจุที่สภาวะต่างๆ มาปรุงให้สุกตามวิธีการปรุงต้มข่ากุ้ง ที่กล่าวไว้ในวิธีการวิจัยข้อ 7.4.4 (Figure 23 และ 24) ทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของน้ำซุปต้มข่ากุ้ง โดยให้ผู้ทดสอบชิม 30 คน ซึ่งเป็นบุคลากรและนักศึกษาภายในคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ให้คะแนนความชอบของน้ำซุปต้มข่ากุ้งในด้านลักษณะปรากฏ (Appearance) สี (Color) ความข้นหนืด (Viscosity) กลิ่นเครื่องเทศ (Spices odor) รสชาติ (Taste) และความชอบรวม (Overall linking) จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า กุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าและกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าทุกชุดการทดลอง ที่เก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่างๆ เมื่อปรุงเป็นต้มข่ากุ้งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ดัง Table 48 แต่เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 8 วัน พบว่ากุ้งที่ไม่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าบรรจุแบบปกติ (T1) และบรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศที่มีอัตราส่วนของ CO_2: O_2: N_2 เท่ากับ 50: 5: 45 (T5) และกุ้งที่มาริเนทด้วยเครื่องต้มข่าที่บรรจุแบบปกติ (T2) เริ่มเกิดการเน่าเสีย โดยตรวจพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) มีค่าเป็น 2.2×10^8, 1.0×10^8 และ 2.2×10^8 CFU/g ตามลำดับ ซึ่งมีค่า > 5.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย (Anonymous, 1998 อ้างโดย Aycicek *et al*, 2006) จึงไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดสอบ ดังนั้นเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เป็นระยะเวลา 12 วัน พบว่ามีเพียง 2 ผลิตภัณฑ์เท่านั้นที่ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสคือ กุ้งที่มาริเนทเครื่องต้มข่าที่บรรจุแบบดัดแปลงบรรยากาศ (T4 และ T6) เมื่อปรุงเป็นต้มข่ากุ้งแล้วเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ โดยมีคะแนนในแต่ละคุณลักษณะมากกว่า 6 ซึ่งหมายถึงผู้ทดสอบยังคงชอบผลิตภัณฑ์ ส่วนผลิตภัณฑ์อื่นพบว่ามีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (TVC) > 5.0×10^7 โคโลนีต่อกรัม แสดงว่าอาหารเสื่อมเสีย จึงไม่ได้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสเนื่องจากอาจเป็นอันตรายต่อผู้ทดสอบ

Table 48. Marination effect on sensory values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 12 days.

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Apperance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
T1	0	7.03±0.96	7.00±1.08	6.80±1.19	7.27±1.01	7.08±1.25	7.10±1.03
T2		6.93±0.87	6.93±0.87	7.07±1.20	6.87±1.07	6.80±1.00	7.03±0.93
T1	4	7.13±1.11	7.17±0.99	7.23±0.77	6.90±0.96	7.17±1.05	7.33±0.88
T2		6.67±1.40	7.13±1.04	7.03±0.93	6.97±1.13	6.73±1.20	6.83±1.05
T3		7.00±1.11	7.00±1.17	7.13±1.01	7.13±1.28	7.10±1.32	7.23±1.17
T4		6.70±1.39	6.87±1.41	6.63±1.38	6.93±1.08	6.70±1.15	6.70±1.02
T5		7.03±1.03	7.17±0.91	7.03±0.93	7.17±1.02	6.92±1.40	7.23±0.90
T6		6.23±1.45	6.43±1.28	6.53±1.11	6.40±1.07	6.07±1.41	6.20±1.16
T1	8	-	-	-	-	-	-
T2		-	-	-	-	-	-
T3		6.60±1.25	6.48±1.29	6.63±1.30	7.15±1.01	6.77±1.22	6.82±1.04
T4		6.90±1.16	6.93±1.20	6.18±1.45	6.67±1.24	6.37±1.54	6.53±1.28
T5		-	-	-	-	-	-
T6		7.03±1.16	6.87±1.22	6.13±1.38	6.70±1.24	6.13±1.38	6.45±1.29

Table 48. Marination effect on sensory values of shrimp marinated without and with Tom-kha paste stored at 4°C for 12 days. (Continued)

Treatment	Storage time (days)	Attribute					
		Apperance	Color	Viscosity	Spices odor	Taste	Overall liking
T1	12	-	-	-	-	-	-
T2		-	-	-	-	-	-
T3		-	-	-	-	-	-
T4		7.04±0.93	7.22±1.04	6.78±0.90	6.91±0.73	6.48±0.99	6.65±0.88
T5		-	-	-	-	-	-
T6		7.00±0.95	7.22±1.20	6.91±1.00	7.00±1.00	6.61±1.27	6.65±1.03