



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดพืชต่อการต้านการหืนในอิมัลชัน

ANTI-RANCIDITY EFFECT OF PLANT EXTRACTS IN EMULSION

นางสาววิพัชย์ อารีกุล

นางสาวนราพร พรหมไกรวรรณ

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ผลของสารสกัดพืชต่อการต้านการหืนในอิมัลชัน

ANTI-RANCIDITY EFFECT OF PLANT EXTRACTS IN EMULSION

นางสาววิพัทธ์ อารีกุล

นางสาวนราพร พรหมไกรวร

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ผลของสารสกัดพืชต่อการต้านการหืนในอิมัลชัน

แหล่งเงิน งบประมาณแผ่นดิน

ประจำปีงบประมาณ 2554 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 378,400 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2553 ถึง กันยายน 2554

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการ และผู้ร่วมโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

นางสาววิรัช อารีกุล คณะอุตสาหกรรมเกษตร (หัวหน้าโครงการ)

นางสาวนราพร พรหมไกรวร คณะอุตสาหกรรมเกษตร (ผู้ร่วมโครงการวิจัย)

บทคัดย่อ

สารสกัดพืชด้วยเอธานอลจำนวน 10 ชนิดนำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันจำนวน 4 วิธี คือ DPPH free radical scavenging assay, Oxygen Radical Absorbance Capacity, Trolox equivalent antioxidant capacity assays and Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) สารสกัดพืช (ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม) มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 11.18-42.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันอยู่ในช่วงกว้าง สารสกัดพืช 3 ชนิด ได้แก่ สารสกัดชะโล้ (*Schima wallichii*), หมี่เหม็น (*Litsea glutinosa*) และผักไผ่ (*Persicaria odorata*) มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงในทุกๆ วิธีการทดสอบ ผลการทดลองยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกอาจมีบทบาทสำคัญต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วย

ผลการใช้สารสกัดพืช 10 ชนิดที่ความเข้มข้นทั้งสองระดับ (200 และ 500 พีพีเอ็ม) ในการยับยั้งการหืนของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ 35°C นาน 56 วัน แล้วตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงของสีและความคงตัว รวมถึงการออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), Peroxide Value (PV), p-Anisidine Value (p-AV) และ Total oxidation value (Totox V) พบว่า การเติมสารสกัดพืชส่งผลให้สีและความคงตัวของอิมัลชันเปลี่ยนแปลงไป การออกซิเดชันของไขมันในทุกๆ วิธีการทดสอบเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น การเติมพืชในอิมัลชันทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้ การเพิ่มความเข้มข้นของพืชจาก 200 เป็น 500 พีพีเอ็ม ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันลดลงเช่นกัน อัตราการออกซิเดชันของไขมันเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (First order reaction) ซึ่งในการทดสอบอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลเช่นเดียวกัน จากผลการทดลองนี้ สามารถคัดเลือกสารสกัดชะโล้และผักไผ่ในการประเมินผลของฟิเอช (ระหว่าง 3-7) และอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษา (25-45 องศาเซลเซียส) ต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอิมัลชันทั้ง 2

การศึกษาผลของความเข้มข้นของพืช 2 ระดับ โดยสารสกัดชะโล้ที่ความเข้มข้น 300 และ 500 พีพีเอ็ม และสารสกัดผักไผ่ที่ 250 และ 500 พีพีเอ็ม พบว่า ที่ความเข้มข้นสูงความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันเพิ่มขึ้น แต่ความเสถียรของอิมัลชันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำ ฟิเอชและอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อความเสถียรของอิมัลชัน การลดฟิเอชในอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น ทำให้ความเสถียรของอิมัลชันลดลงและเร่งการแยกชั้นของน้ำมัน อย่างไรก็ตาม ทุกๆ ฟิเอช

จะเสถียรที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การลดพีเอชและการเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษา มีผลทำให้การออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นในทุกๆ วิธีทดสอบ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการหืนได้ดีที่สุดในการทดสอบอิมัลชันทั้ง 2 ประเภท

คำสำคัญ : อิมัลชันน้ำมันในน้ำมัน การต้านการหืน สารสกัดพืช *Schima wallichii*

Research Title: Anti-rancidity effect of plant extracts in emulsion

Researcher: MS. Varipat Areekul and MS. Naraporn Phomkaivon

Faculty: Agro-Industry

Department: -

ABSTRACT

The 10 plant ethanolic extracts were evaluated for total phenolic content (TPC) and 4 antioxidant activity including DPPH free radical scavenging assay (DPPH), Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assays, Ferric reducing/ antioxidant power (FRAP), and Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC). The plant extracts had TPC ranged from 11.18 to 42.94 µg/ml and exhibited a wide range of antioxidant activities. Three plant extracts from *Schima wallichii*, *Litsea glutinosa* and *Persicaria odorata*, showed very high antioxidant activities in all assays studied. The result also revealed that phenolic compound may responsible for antioxidant activity.

The effect of 10 plant extracts at concentration of 200 and 500 ppm were evaluated for their anti-rancidity in water in oil emulsion (90% oil). Their color change and their stabilities was observed at 56 day stored at 35°C. The lipid oxidation was determined by Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), Peroxide Value (PV), p-Anisidine Value (p-AV) and Total oxidation value (Totox V). The lipid oxidation in all assays increased as storage time increased. The addition of plant extracts into emulsion tended to decelerate oxidation. In addition, increasing plant extract concentration from 200 to 500 ppm also decreased oxidation. The oxidation rate of all plant extracts followed the first order kinetic reaction. The same result was observed in water in oil emulsion (70% oil). From these results, the extract of *S. wallichii* and *P. odorata* were chosen for evaluating the effect of pH (3-7) and storage temperature (25-45°C) on lipid oxidation of both emulsions.

The effect of two concentrations of plant extracts was determined for talo at 300 and 500 ppm and for pukpai at 250 and 500 ppm. At high concentration, the higher antioxidation effectiveness of plants was observed while the lower emulsion stability was found compared with those at low concentration. The pH and storage temperature influenced on emulsion stability. Decrease in pH at higher storage temperature decreased in their emulsion stability and accelerated oil separation. However, all pHs were stable at 25 °C. At lower pH and higher storage temperature, the lipid oxidation increased in all lipid oxidation assays. The result indicated that *S. wallichii* extract at 500 ppm showed the highest anti-rancidity effectiveness in both emulsions.

Keywords : water in oil emulsion, Anti-rancidity, plant extract, *Schima wallichii*

กิตติกรรมประกาศ

“การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากเงินงบประมาณรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2554” ซึ่งสามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ สถานีเกษตรหลวงอ่างขาง ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างพืชพื้นบ้านสำหรับงานวิจัยครั้งนี้ และขอกราบขอบพระคุณ ศ.ดร.สุธรรม อารีกุล และคณะ ที่กรุณาคัดเลือกและทำการตรวจสอบลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของตัวอย่างพืชทั้งหมด

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ คณะอุตสาหกรรมเกษตรที่ช่วยอำนวยความสะดวกในทุกๆ ด้านระหว่างการทำงานวิจัย

นางสาววิพัชย์ อารีกุล
นางสาวนราพร พรหมไกรวร

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	IV
สารบัญ	V
สารบัญตาราง	VII
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 บทนำ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 อิมัลชัน	3
2.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน	12
2.3 การประยุกต์ใช้สารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชัน	18
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	23
3.1 วัตถุดิบ	23
3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์	24
3.3 สถานที่ดำเนินงาน	25
3.4 วิธีการทดลอง	25
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	32
4.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธีต่างๆของสารสกัดพืช	32
4.2 ผลของการใช้สารสกัดพืชในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันประเภทน้ำในน้ำมัน ที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์และ 70 เปอร์เซ็นต์	34
4.3 ผลของพีเอชและอุณหภูมิต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันประเภทน้ำในน้ำมัน ที่เติมสารสกัดพืช	56

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	89
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	89
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	90
บรรณานุกรม.....	91
ภาคผนวก.....	100
ภาคผนวก ก.....	101

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ลักษณะปรากฏของอิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคของเฟสกระจายตัวต่างกัน.....	4
2.2 ค่า HLB ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร.....	11
2.3 ผลของพีเอชและชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชัน.....	11
3.1 ตัวอย่างพืช.....	23
4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืช.....	32
4.2 ความคงตัวของอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์.....	35
4.3 ค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา(k)ที่คำนวณได้จากทฤษฎีวิเคราะห์ ของอิมัลชัน 90 เปอร์เซ็นต์.....	53
4.4 ค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา(k)ที่คำนวณได้จากทฤษฎีวิเคราะห์ ของอิมัลชัน 70 เปอร์เซ็นต์.....	54
4.5 ความคงตัวของอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังรักษานานการเก็บ 56 วัน.....	57
4.6 ความคงตัวของอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังรักษานานการเก็บ 32 วัน.....	59
4.7 ค่า Q10 และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของอิมัลชัน 90 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชและอุณหภูมิต่างๆ.....	85
4.8 ค่า Q10 และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของอิมัลชัน 70 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชและอุณหภูมิต่างๆ.....	87

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (น้ำสลัด) ที่มีการกระจายตัวของหยดน้ำมันในน้ำ.....	3
2.2 ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน.....	7
2.3 การเสถียรภาพของอิมัลชันอันเนื่องมาจาก (A) ปัจจัยด้านค่านเคมี (B) ปัจจัยด้านกายภาพ (C) ปัจจัยด้านจุลินทรีย์.....	7
2.4 การเสถียรภาพแบบ coalescence.....	9
2.5 การรวมตัวกันแบบ partial coalescence ในนม.....	10
2.6 การเกิด ostwald ripening ในอิมัลชัน.....	11
2.7 ภาพจำลองการเสถียรภาพแบบต่างๆในอิมัลชัน.....	11
2.8 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) และกรดไทโอบาร์บิทริก(TBA).....	19
4.1 ค่าเปอร์ออกไซด์ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	40
4.2 ค่าเปอร์ออกไซด์ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	42
4.3 ค่า TBARS ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	44
4.4 ค่า TBARS ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	46
4.5 ค่า p-AV ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	48
4.6 ค่า p-AV ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	49
4.7 ค่า Totox V ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	51
4.8 ค่า Totox V ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น.....	52
4.9 ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	61
4.10 ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	63
4.11 ค่า TBARS ในตัวอย่างอิมัลชันประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	65
4.12 ค่า TBARS ในตัวอย่างอิมัลชันประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	67
4.13 ค่า p-AV ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่พีเอชต่างๆ.....	69
4.14 ค่า p-AV ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	70

4.15 ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่พีเอชต่างๆ.....	72
4.16 ค่า Totox V ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ.....	74
4.17 ปฏิกริยาออกซิเดชันในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	76
4.18 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	77
4.19 การเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันตัวอย่างอิมัลชัน 90 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	79
4.20 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส.....	80
4.21 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	81
4.22 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส.....	83

บทที่ 1

บทนำ

1.1 บทนำ

ความต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน มุ่งเน้นไปที่ผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ ซึ่งนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการแล้วนั้น ยังต้องมีลักษณะปรากฏ รวมทั้งกลิ่นรสเป็นที่ต้องการ และที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือต้องมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จากแนวโน้มดังกล่าวทำให้เกิดการตื่นตัวของอุตสาหกรรมอาหาร ในการนำเอาพืชสมุนไพร พืชอื่นๆ รวมทั้งผักและผลไม้ที่พบในท้องถิ่นมาใช้ประโยชน์กันมากขึ้น สารพฤกษเคมี (phytochemicals) ที่พบหลากหลายในพืชชนิดต่างๆ นั้นไม่จัดเป็นสารอาหารกลุ่มที่ให้พลังงาน แต่มีสมบัติทางด้านโภชนเภสัช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสัมพันธ์ กับการลดอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคกระเพาะ ฯลฯ สารพฤกษเคมี ได้แก่ แคโรทีนอยด์ และโพลีฟีนอล เป็นต้น อีกทั้งยังมีรายงานทางวิชาการทั้งในและต่างประเทศ ในการศึกษาสมบัติในการต้านออกซิเดชันของพืชชนิดต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นพืชเศรษฐกิจ เครื่องเทศ สมุนไพร พืชอาหาร พืชที่เป็นยารักษาโรค พืชพื้นเมือง รวมทั้งพืชป่า ซึ่งการค้นหาค้นหาพืชที่มีศักยภาพสูงชนิดใหม่ๆ เพื่อนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารยังคงมีความจำเป็น เนื่องจากแนวโน้มของผู้บริโภคในปัจจุบันที่ต้องการลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหาร จึงเป็นเหตุให้นักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจในการศึกษาพืชท้องถิ่นเพิ่มมากขึ้น การนำองค์ความรู้ที่มีอยู่ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสารผลิตภัณฑ์ เช่น การใช้ประโยชน์จากความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและรงควัตถุ จะลดการเหม็นหืนในอาหารและการเปลี่ยนแปลงสี ทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น การใช้สารกันหืนตามธรรมชาติเพื่อทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้จะเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบัน

มูลนิธิโครงการหลวงได้เริ่มวิจัย พัฒนา และผลิตพืชป่าที่ชาวเขาใช้ประโยชน์มาเป็นพืชเศรษฐกิจ เพื่อนำออกจำหน่ายทั้งในรูปของอาหาร เภสัชกรรมและการเกษตร ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของโครงการตามพระราชดำริที่ทำการวิจัยและพัฒนาเพื่อเป็นการส่งเสริมอาชีพให้กับชาวเขา กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์จากพืชส่วนใหญ่เป็นการดำเนินตามภูมิปัญญาท้องถิ่น ประกอบกับการดัดแปลงเพื่อการผลิตในระดับเชิงอุตสาหกรรม ที่ยังไม่มีการศึกษาถึงองค์ความรู้พื้นฐานเชิงวิชาการทางด้านสมบัติบางประการ ที่สามารถใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในพืชเหล่านี้ ตลอดจนความแตกต่างทางด้านสายพันธุ์ ลักษณะดิน ลักษณะภูมิประเทศและภูมิอากาศ อันเป็นปัจจัยที่ส่งผลถึงความแตกต่างในองค์ประกอบทางเคมีของพืชในแต่ละท้องถิ่น อีกทั้งอาจมีความจำเพาะของคุณลักษณะบางประการที่แตกต่างกันในพืชแต่ละชนิด

งานวิจัยในโครงการนี้ จึงมีความสำคัญที่จะทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของการประเมินชีวกิจกรรมของพืชทางด้านความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอิมัลชันด้วยวิธีต่างๆ เพื่อนำไปทดสอบความเป็นไปได้ในการประยุกต์ใช้เพื่อเป็นสารกันหืนตามธรรมชาติในอาหารประเภทอิมัลชันอันเป็นการลดปริมาณการใช้สารกันหืนสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่างๆ รวมทั้ง ข้อมูลที่ได้นี้สามารถไปประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์และส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากพืชให้คุ้มค่า นอกจากนี้ยังอาจทำให้เกิด

พืชเศรษฐกิจใหม่ๆ ที่สามารถส่งเสริมการเพาะปลูก ทำให้เกิดรายได้ให้กับชุมชนในท้องถิ่น และยังเป็นการแก้ปัญหาความยากจนได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยวิธีการต่างๆ

1.2.2 ศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากพืชในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมัน

1.2.3 ศึกษาผลของพีเอชและอุณหภูมิต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันของสารสกัดพืชที่คัดเลือก

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นศึกษาการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันด้วยสารสกัดพืชท้องถิ่นและพืชป่า จำนวน 10 ชนิด โดยนำสารสกัดจากพืชเหล่านี้มาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ วิธี DPPH radical scavenging activity (DPPH) ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ด้วยวิธี TEAC วิธี Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) และวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assays จากนั้นศึกษาผลของการใช้สารสกัดจากพืชที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็ม ในการชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เพื่อคัดเลือกพืชจำนวน 2 ชนิดในแต่ละความเข้มข้น แล้วจึงนำสารสกัดพืชที่คัดเลือกมาศึกษาผลของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (3, 5.4 และ 7) และอุณหภูมิการเก็บรักษา (25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส) ที่มีต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชดังกล่าว

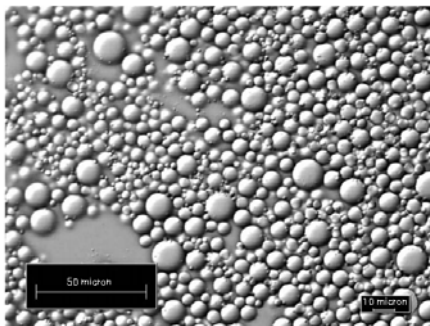
บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อิมัลชัน

2.1.1 ความหมาย

อิมัลชัน (emulsion) หมายถึง ระบบการกระจายของอาหารที่มีของเหลวอย่างน้อยสองชนิดที่ไม่รวมตัวกัน (immiscible liquids) โดยมีของเหลวชนิดหนึ่งกระจายตัว (dispersed phase) อยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง (continuous phase) ในรูปของอนุภาคทรงกลมขนาดเล็ก (spherical droplets) (ภาพที่ 2.1) โดยทั่วไป ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของอนุภาค (droplets) ในอิมัลชันที่เป็นผลิตภัณฑ์อาหาร จะมีขนาดเฉลี่ยตั้งแต่ 0.1-100 ไมครอน (μm) (Dickinson, 1992; Friberg และ Larrson, 1997) และสามารถแบ่งชนิดของอิมัลชันตามชนิดของเฟสกระจายตัว เช่น อิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (oil-and-water emulsion, O/W) ก็จะมีพบเฟสน้ำมันกระจายตัวในเฟสน้ำ ในทางกลับกันอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมัน (water-and-oil emulsion, W/O) จะพบการกระจายตัวของเฟสน้ำในเฟสของน้ำมัน (McClements, 2005) นอกจากนี้ ยังพบระบบอิมัลชันที่มีความซับซ้อนในผลิตภัณฑ์ยา และเครื่องสำอาง ดังเช่น อิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (O/W/O) หรือ อิมัลชันน้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W) (Garti และ Benichou, 2004)



ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (น้ำสลัด) ที่มีการกระจายตัวของหยดน้ำมันในน้ำ
ที่มา: McClements (2005)

ลักษณะปรากฏของอิมัลชัน มีความสัมพันธ์กับขนาดของอนุภาคของเฟสกระจายตัว โดยอิมัลชันที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 0.15-100 ไมครอน มีลักษณะปรากฏคล้ายนม มีสีขาวขุ่น เนื่องจาก ค่าดัชนีการหักเหแสงในเฟสทั้งสองมีความแตกต่างกันและเกิดการกระจายแสงทำให้มองดูขุ่นขาว ถ้าอิมัลชันมีเส้นผ่านศูนย์กลางอยู่ระหว่าง 0.0015-0.15 ไมครอน พบว่ามีลักษณะโปร่งใส เนื่องจากอนุภาคมีขนาดเล็กมาก จึงไม่หักเหหรือกระจายแสง แสงจึงทะลุผ่านได้ (พิมพา สิลาพรพิสิฐ, 2540) โดย ณรงค์ นิยมวิทย์ (2538) ได้รวบรวมลักษณะปรากฏของอิมัลชันที่มีอนุภาคของเฟสกระจายตัวขนาดต่างๆ เอาไว้ แสดงได้ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ลักษณะปรากฏของอิมัลชันที่มีขนาดหยดของเฟสกระจายตัวต่างกัน

ขนาดหยดของเฟสกระจายตัว	ลักษณะปรากฏของอิมัลชัน
หยดขนาดใหญ่ (macroglobules)	แยกเป็น 2 ชั้น
ขนาดมากกว่า 1 ไมครอน	มีสีขาวขุ่น
ขนาด 0.1-1 ไมครอน	มีสีน้ำเงิน
ขนาด 0.1-0.15 ไมครอน	มีสีค่อนข้างใส สีเทา ไม่มีประกาย
ขนาดน้อยกว่า 0.05 ไมครอน	มีประกาย

ที่มา: ดัดแปลงจาก ณรงค์ นิยมวิทย์ (2538)

2.1.2 ความคงตัวของอิมัลชัน

การเตรียมอิมัลชัน มีกลไกหลัก 2 ประการ โดยในขั้นแรก จำเป็นต้องมีการลดขนาดอนุภาคของเฟสกระจายตัว (droplet disruption) ให้สามารถกระจายอยู่ในอีกเฟสหนึ่งได้ อาจใช้การให้ความร้อน การคน การเขย่า การสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียง (Ultrasonic vibration) และการโฮโมจีไนซ์ (Homogenization) เป็นต้น ส่วนขั้นต่อไป เป็นการรักษาสภาพการกระจายตัว (droplet coalescence) โดยใช้อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) เนื่องจาก อิมัลซิไฟเออร์มีโครงสร้างทั้งส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว จึงสามารถเกาะบนพื้นผิวของอนุภาคที่กระจายอยู่ เพื่อป้องกันไม่ให้อนุภาคของเฟสทั้งสองเข้ามาอยู่ใกล้กันจนเกิดการรวมตัวกันได้ (Coupland และ McClements, 1996) การรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชันสามารถทำได้หลายวิธี (McClements, 2005) มีรายละเอียดดังนี้

1) การรักษาความคงตัวโดยประจุบนพื้นผิว (charge stabilization)

การรักษาความคงตัวของอิมัลชันด้วยวิธีนี้ อาศัยแรงผลักระหว่างประจุเหมือนกัน (electric repulsion) ทำให้เกิดชั้นทางไฟฟ้าสถิตสองชั้น (electrically double layer) ในการป้องกันการรวมตัวของอนุภาค โดยเฉพาะกลุ่มโมเลกุลที่มีประจุ (electrically charged groups) ซึ่งอยู่รอบๆ พื้นผิวของเฟสกระจายตัว แรงผลักระหว่างไอออนชนิดเดียวกัน ส่งผลให้เฟสกระจายตัวไม่เข้ามารวมตัวกัน จึงช่วยรักษาความคงตัวของระบบได้

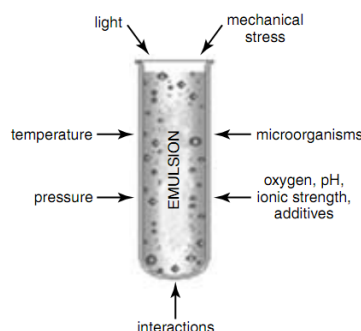
2) การรักษาความคงตัวโดยโมเลกุลที่พื้นผิวสัมผัสระหว่างเฟสทั้งสอง (steric stabilization)

การใช้อิมัลซิไฟเออร์ ซึ่งมีคุณสมบัติที่สามารถละลายได้ทั้งในเฟสกระจายตัวและเฟสต่อเนื่อง หรือ มีสมบัติเป็น amphiphilic โดยอิมัลซิไฟเออร์ต้องมีขนาดโมเลกุลใหญ่และมีความยืดหยุ่นเพียงพอที่จะกีดขวางการรวมตัวของเฟสทั้งสอง รวมถึงต้องเกิดชั้นฟิล์มที่แข็งแรงรอบอนุภาคของเฟสกระจายตัว โดยลักษณะการเรียงตัวของชั้นฟิล์มจะมีลักษณะเฉพาะตัวไปตามชนิดของอิมัลซิไฟเออร์และความเข้มข้นที่ใช้ เช่น การใช้สารลดแรงตึงผิว (surfactant) ทำให้เกิดชั้นฟิล์มที่เรียงตัวเป็นโมเลกุลเดี่ยว (monomolecular film) โดยหันด้านที่มีประจุเข้าหาส่วนที่เป็นน้ำ และหันด้านที่ไม่มีประจุเข้าหาน้ำมัน ส่วนการใช้คอลลอยด์ (colloids) ทำให้เกิดชั้นฟิล์มที่มีความซับซ้อน เกิดการเรียงตัวได้หลายรูปแบบ หรือ การใช้โปรตีนซึ่งเป็นของแข็งดูดซับที่พื้นผิวของเฟสทั้งสอง ในลักษณะของชั้นฟิล์ม (solid partical film) เป็นต้น

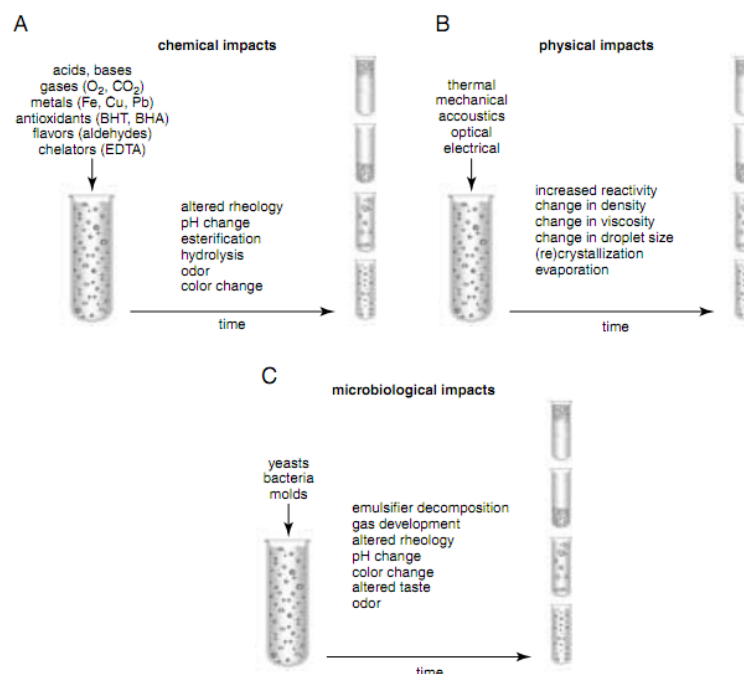
3) การรักษาความคงตัวโดยอนุภาคที่พื้นผิวสัมผัสระหว่างเฟสทั้งสอง (partial stabilization)

การล้อมรอบเฟสกระจายตัวด้วยอนุภาค มีส่วนช่วยกีดขวางการรวมตัวกันของเฟสดังกล่าวเมื่อมีการชนกัน ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ทำให้การใช้อนุภาครักษาความคงตัวของอิมัลชันเป็นผลสำเร็จคือ ชนิดของอนุภาคและมุมสัมผัส (contact angle) ระหว่างพื้นผิวของอนุภาคกับพื้นผิวของเฟสทั้งสอง โดยอนุภาคที่ละลายได้ในเฟสทั้งสองเท่าๆกัน จะรักษาความคงตัวของอิมัลชันได้ดีที่สุด เนื่องจากมีมุมสัมผัสเท่ากับ 90 ส่วน ส่วนอนุภาคที่ละลายได้ในน้ำมันมากกว่าน้ำ จะมีมุมสัมผัสน้อยกว่า 90 ในทางกลับกัน อนุภาคที่ละลายได้ในน้ำมากกว่าน้ำมัน ก็จะมีมุมสัมผัสมากกว่า 90 ซึ่งมุมสัมผัสที่น้อยหรือมากกว่า 90 นี้ ความคงตัวของอิมัลชันจะไม่ดี เนื่องจากอนุภาคสามารถเกาะกับส่วนที่เป็นน้ำมันได้น้อย

อย่างไรก็ดี ระบบอิมัลชันนั้น เป็นระบบที่ไม่สมดุลทางเทอร์โมไดนามิกส์ มีพลังงานอิสระในระบบ ซึ่งมีผลในการเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างเฟสน้ำและเฟสน้ำมันให้รวมตัวกันมากขึ้นแทนที่จะกระจายตัวอยู่ในระบบ จึงเกิดการแยกชั้นเป็นชั้นน้ำมันอยู่ด้านบนซึ่งมีความหนาแน่นต่ำ ส่วนน้ำจะอยู่ด้านล่างเนื่องจากมีความหนาแน่นสูงกว่า ดังนั้น ความคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) จึงหมายถึง ความสามารถของอิมัลชันในการต้านทานต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆ เมื่อเวลาเปลี่ยนไป โดยภาพที่ 2.2 แสดงปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน นอกจากนี้ ในระหว่างการเก็บรักษาอิมัลชัน ย่อมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทางกายภาพและทางจุลินทรีย์ ซึ่งล้วนแต่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของอิมัลชันด้วยเช่นกัน (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.2 ปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมที่ส่งผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน
ที่มา: Weiss (2001)



ภาพที่ 2.3 การเสถียรภาพของอิมัลชันอันเนื่องมาจาก (A) ปัจจัยด้านเคมี (B) ปัจจัยด้านกายภาพ (C) ปัจจัยด้านจุลินทรีย์
ที่มา: Weiss (2001)

การเสถียรภาพของอิมัลชัน มีสาเหตุหลักๆมาจากแรงดึงดูดระหว่างอนุภาคระหว่างอนุภาค (droplet-droplet interaction) ของเฟสทั้งสอง ทำให้เกิดการรวมตัวกันของอนุภาคขนาดเล็ก กลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ จนในที่สุดเกิดการแยกชั้นของเฟสแต่ละเฟสออกจากกัน ซึ่งถือเป็นการเสถียรภาพของอิมัลชันอย่างสมบูรณ์ อย่างไรก็ตาม Weiss (1999) รายงานว่า การเสถียรภาพของอิมัลชันมักเกิดจากกลไกการถ่ายเทมวลในระดับซูพราโมเลกุล (supramolecular mass transport mechanisms) พบได้ในการเสถียรภาพแบบการเกิดครีม sedimentation, flocculation, coalescence, partial coalescence และการเปลี่ยนเฟส (phase inversion) อีกทั้งยังพบการเสถียรภาพจากกลไกอื่นๆ ดังเช่น การเสถียรภาพแบบ ostwald ripening ที่เฟสกระจายตัวสามารถรวมตัวกันเป็นหยดขนาดใหญ่โดยอาศัยการแพร่ผ่านส่วนของเหลวรอบๆ (continuous phase) การเสถียรภาพที่พบในอิมัลชันสามารถแบ่งออกเป็น 6 รูปแบบใหญ่ๆ (McClements, 2005) ดังนี้

1) การเกิดครีม (Creaming)

การเสถียรภาพแบบนี้ มีสาเหตุมาจากการเคลื่อนที่ของอนุภาคน้ำมัน (oil droplets) ภายใต้แรงโน้มถ่วง หรือแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง ซึ่งจะทำให้เกิดการแยกชั้นกันโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาค โดยทั่วไป อนุภาคของเฟสทั้งสองจะมีความหนาแน่นต่างกัน ถ้าอนุภาคของเฟสกระจายตัวมีความหนาแน่นต่ำกว่าของเหลวรอบๆ อนุภาคน้ำมันจะลอยขึ้นด้านบน เกิดการแยกเป็นชั้นครีม มักพบในอิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ (O/W) แต่ในกรณีที่เฟสกระจายมีความหนาแน่นสูงกว่า เช่น อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน (W/O) เฟส

กระจายจะรวมกันตกตะกอนอยู่ด้านล่าง ซึ่งจะเรียกการเสียสภาพแบบนี้ว่า sedimentation (McClements, 2005)

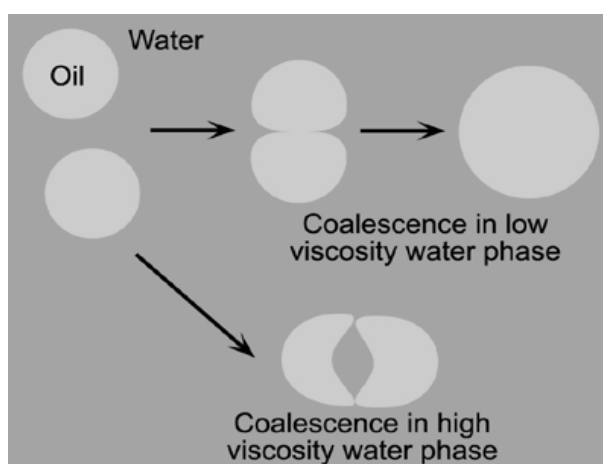
การเกิดครีมเป็นการเสียสภาพเริ่มต้นที่มักนำไปสู่การเสียสภาพขั้นอื่นๆที่มีความรุนแรงมากขึ้น ทั้ง flocculation หรือ coalescence (Dalgleish, 1997) อีกทั้งยังส่งผลกระทบต่ออายุการยอมรับของผู้บริโภคอีกด้วย เนื่องจาก ผู้บริโภคต้องการผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน อย่างไรก็ตาม การเกิดครีมนี้เป็นการเสียสภาพแบบผันกลับได้ โดยให้แรงกวนผสมแก่ระบบ (Dickinson, 1992)

2) Flocculation

การเสียสภาพแบบ flocculation เป็นผลมาจากพลังงานความร้อน แรงโน้มถ่วง หรือ แรงทางกล ทำให้อนุภาคมีการชนกัน แล้วเกิดการแยกตัวออกจากกันหรือรวมตัวกันตามแรงผลักหรือแรงดึงดูดที่มีอยู่ในแต่ละอนุภาค ซึ่ง flocculation เป็นกระบวนการที่อนุภาคหลายอนุภาคเคลื่อนที่มาอยู่เป็นกลุ่มใกล้กัน โดยแต่ละอนุภาคยังคงลักษณะของหยดน้ำมันเอาไว้ (individual integrity) การเกิด flocculation ยังเป็นการเร่งการแยกชั้นอันเนื่องมาจากแรงโน้มถ่วง (gravitational separation) ทำให้การแยกชั้นครีม รวมถึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีความหนืดสูงขึ้นและอาจเกิดเจลได้ (Demetriades และ คณะ, 1997) อย่างไรก็ตาม การเสียสภาพแบบนี้สามารถผันกลับได้เมื่อผสมโดยใช้แรงเฉือนต่ำ (low shear force) (Serra และ Casamitjana, 1998)

3) Coalescence

การเกิด coalescence เป็นการเสียสภาพที่มีความรุนแรงและไม่สามารถผันกลับได้ โดยมีสาเหตุมาจากชั้นฟิล์มบางๆ (lamella) ระหว่างอนุภาคที่อยู่ใกล้กันเกิดการแตก ทำให้อนุภาครวมตัวกันกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ โดยเฉพาะอย่างยิ่งถ้ามีรูเล็กๆ เกิดขึ้นในฟิล์มดังกล่าว อนุภาคจะรวมตัวกันทันที แต่การเสียสภาพแบบนี้ จะเกิดขึ้นได้เมื่ออนุภาคทั้งสองอยู่ใกล้กันและฟิล์มระหว่างอนุภาคเกิดการแตกออกจากกันเท่านั้น ดังแสดงในภาพที่ 2.4 นอกจากนี้ อิมัลชันที่เสียสภาพแบบ coalescence ยังเร่งให้เกิดครีมหรือตกตะกอนได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากการเพิ่มขนาดของอนุภาคน้ำมันในอิมัลชัน นำไปสู่การเกิดชั้นของน้ำมันในส่วนผิวหน้าที่ เรียกว่า oiling off ซึ่งกระบวนการนี้เป็นกระบวนการที่ไม่สามารถผันกลับได้

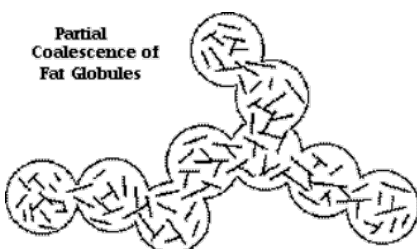


ภาพที่ 2.4 การเสียสภาพแบบ coalescence

ที่มา: <http://itacanet.org/eng/misc/cola/cola1.htm> (2011)

4) Partial coalescence

การเกิด partial coalescence สามารถพบได้ในกรณีที่อุณหภูมิของระบบอิมัลชันมีค่าต่ำกว่าจุดหลอมเหลวของน้ำมัน (Rousseau, 2000) เมื่ออนุภาคน้ำมันที่เป็นผลึกบางส่วนอย่างน้อย 2 อนุภาคเคลื่อนที่เข้าใกล้กัน จะเกิดการรวมตัวและจัดเรียงตัวเป็นรูปร่างที่ผิดปกติ แต่การเกาะตัวกันยังคงรูปร่างของอนุภาคไว้ได้ (ภาพที่ 2.5) เนื่องมาจากโครงร่างของของผลึกไขมันภายในอนุภาคจะป้องกันการรวมตัวอย่างสมบูรณ์



ภาพที่ 2.5 การรวมตัวกันแบบ partial coalescence ในนม
ที่มา: Chang และคณะ (2002)

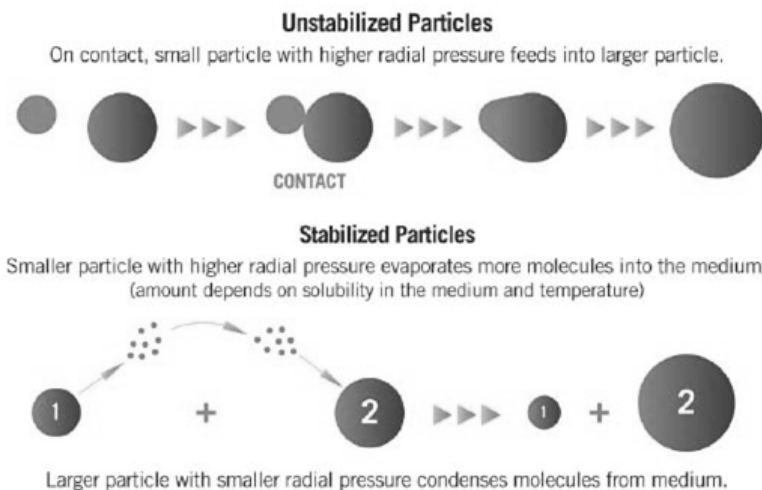
การเสียดสภาพแบบนี้ มีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์ต่างๆ แตกต่างกัน เช่น ถ้าพบลักษณะดังกล่าวในนม จะถือเป็นการเสียดสภาพ แต่ในการผลิตวิปครีม ไอศกรีม จำเป็นต้องทำให้เกิด partial coalescence บางส่วน (Dickinson และ Stainsby, 1982; McClements, 2005) โดย อิมัลชันถูกทำให้เย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดหลอมเหลวบางส่วน แล้วจึงให้แรงเฉือนแก่ระบบ อนุภาคจึงรวมตัวกันเป็น partial coalescence โดยอนุภาคไขมันที่รวมตัวกัน ทำให้เกิดโครงสร้างที่ล้อมรอบเซลล์อากาศ ผลิตภัณฑ์จึงมีความคงตัวและเนื้อสัมผัสที่ดี

5) การเปลี่ยนเฟส (Phase inversion)

การเปลี่ยนเฟส หมายถึง การเปลี่ยนชนิดของระบบอิมัลชันจากระบบหนึ่งเป็นอีกระบบหนึ่ง เช่น ระบบอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (O/W) เปลี่ยนเป็นประเภทน้ำในน้ำมัน (W/O) หรืออาจเปลี่ยนเป็นระบบอื่นๆ การเปลี่ยนเฟสเกิดขึ้นได้เนื่องจาก องค์ประกอบของระบบ หรือ ปัจจัยทางสภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งปริมาณของเฟสกระจายตัว อุณหภูมิ ชนิดและความเข้มข้นของอิมัลซิไฟเออร์ หรือ ชนิดของแรงที่ให้แก่ระบบ การเปลี่ยนเฟสจึงเป็นการร่วมกันระหว่างกลไกที่เกี่ยวข้องกับการรวมตัวกัน ทั้ง flocculation, coalescence และการเกิดลักษณะอิมัลชัน (emulsion formation) มักใช้ในการเตรียมระบบอิมัลชันเชิงซ้อน (multiple systems) นอกจากนี้ การเปลี่ยนเฟสยังเป็นกระบวนการจำเป็นในการผลิตเนยและมาร์การีน แต่ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ ลักษณะดังกล่าวไม่เป็นที่ต้องการ เนื่องจาก ผลิตภัณฑ์มีลักษณะปรากฏ รสชาติ เนื้อสัมผัส ความคงตัวและรสชาติเปลี่ยนไป (McClements, 2002)

6) oswald ripening

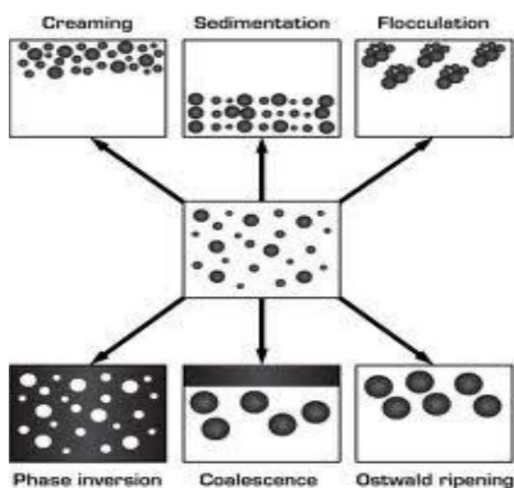
การเสถียรภาพแบบ oswald ripening จะพบการถ่ายเทมวล กล่าวคือ เกิดการรวมตัวของอนุภาคขนาดเล็กจนกลายเป็นอนุภาคขนาดใหญ่ โดยอาศัยการแพร่ของเฟสกระจายตัวผ่านของเหลวรอบๆ ดังภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 การเกิด oswald ripening ในอิมัลชัน
ที่มา: Gwozdz (2009)

อย่างไรก็ดี ในผลิตภัณฑ์อาหารพบการเสถียรภาพ oswald ripening ได้น้อยมาก เนื่องจาก ความสามารถของทั้ง triacylglycerols และน้ำต่ำมาก (Dickinson และ Stainsby, 1982) อัตราการส่งถ่ายมวลจึงเกิดขึ้นได้น้อยตามไปด้วย (McClements, 2002)

การเสถียรภาพของอิมัลชันทั้ง 6 แบบ สามารถแสดงภาพจำลองได้ดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 ภาพจำลองการเสถียรภาพแบบต่างๆในอิมัลชัน
ที่มา: http://imk209.wikispaces.com/Emulsions_csm (2011)

2.1.3 อิมัลซิไฟเออร์

อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) หรือ สารลดแรงตึงผิว (surfactants) หมายถึง สารที่มีสมบัติละลายได้ทั้งส่วนที่ไม่มีขั้ว (non-polar) และส่วนที่มีขั้ว (polar) ซึ่งถูกนำมาใช้เพื่อรักษาความคงตัวของระบบอิมัลชัน อิมัลซิไฟเออร์ที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมักเป็นสารลดแรงตึงผิวที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก เช่น tweens, span และเกลือของกรดไขมัน รวมไปถึง ฟอสโฟลิปิด เช่น เลซิติน เป็นต้น โครงสร้างของอิมัลซิไฟเออร์จะประกอบด้วย 2 ส่วนที่มีหมู่ตรงข้ามกันใน 1 โมเลกุล เช่น มีขั้วกับไม่มีขั้ว (polar/non-polar) ไม่ชอบน้ำกับชอบน้ำ (hydrophobic/hydrophilic) ไม่ชอบไขมันกับชอบไขมัน (lipophobic/lipophilic) และ lyophobic/lyophilic (St. Angelo, 1989) นอกจากนี้ อิมัลซิไฟเออร์ที่จะนำมาใช้ในอาหารต้องไม่เป็นพิษ (nontoxic) ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง (noncarcinogenic) และไม่เป็นสารก่อการเกิดอาการแพ้ (nonallergenic)

อิมัลซิไฟเออร์ สามารถเพิ่มความคงตัวของระบบอิมัลชันได้ เนื่องจาก เมื่ออิมัลซิไฟเออร์ละลายในเฟสทั้งสองแล้ว จะเกิดการรวมตัวกัน และจัดเรียงโครงสร้างใหม่ในรูปแบบต่างๆ เพื่อให้มีความเสถียรทางเทอร์โมไดนามิกมากขึ้น ลักษณะของการเรียงตัวที่เกิดขึ้นนี้ ช่วยลดพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างส่วนที่ไม่ชอบน้ำของเฟสกระจายตัวกับส่วนของเหลวรอบๆ ซึ่งจะเรียกว่า association colloids โดยเกิดได้หลายลักษณะ เช่น micelles, bilayers, vesicles และ reverse micelles เป็นต้น ซึ่งการเรียงตัวนั้นเป็นสมบัติเฉพาะตัวของสารขึ้นอยู่กับความมีขั้วและรูปร่างของโมเลกุล (McClements, 2005)

อิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ในอิมัลชันมีหลายชนิด โดยโครงสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำมักเป็นกรด สเตอริก ปาล์มิติก และ ลิโนเลอิก ในขณะที่ส่วนชอบน้ำประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl) หรือคาร์บอกซิล (carboxyl) อิมัลซิไฟเออร์ที่ได้รับอนุญาตและนิยมใช้อาหาร ประกอบด้วย กลุ่มแรกเป็นกลุ่มอิมัลซิไฟเออร์ที่ไม่มีประจุ ได้แก่ โมโนกลีเซอไรด์ ซอร์บิแทนเอสเทอร์ โพลีซอร์เบทและซูโครสเอสเทอร์ กลุ่มที่สองเป็นกลุ่มอิมัลซิไฟเออร์ที่มีประจุลบ ได้แก่ โซเดียมและแคลเซียม สเตียโรอิล-2-แลคทิลเลท ซัคซินิเลท โมโนกลีเซอไรด์ เป็นต้น กลุ่มที่สามเป็นอิมัลซิไฟเออร์ชนิดแอมโฟเทอริก (amphoteric) เช่น ฟอสฟาติดีลโคลีน (phosphatidylcholine) หรือ เลซิติน ซึ่งมีสมบัติเป็น zwitterionic ทำให้ประจุสุทธิเป็นศูนย์ภายใต้สภาวะกรดต่ำที่เป็นกลาง (Dickinson, 1992)

การเลือกใช้อิมัลซิไฟเออร์จึงเป็นสิ่งสำคัญที่ทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัว โดยดัชนีสำคัญที่นำมาใช้คัดเลือก คือ ค่า HLB (hydrophilic-lipophilic balance) ซึ่งเป็นค่ามาตรฐานที่แสดงถึงความสัมพันธ์ระหว่างหมู่ที่ชอบน้ำ (hydrophilic) และหมู่ที่ชอบน้ำมัน (lipophilic) ของอิมัลซิไฟเออร์ โดย ค่า HLB จะแปรผันตามอัตราส่วนของหมู่ที่ชอบน้ำต่อหมู่ที่ชอบน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของอิมัลซิไฟเออร์ (Beltz และ Grosch, 1999; McClements, 2005) โดย Beltz และ Grosch (1999) ได้สรุปค่า HLB ที่เหมาะสมต่อการเตรียมอิมัลชันในผลิตภัณฑ์อาหารได้ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 ค่า HLB ที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ค่า HLB	การนำไปใช้
3-6	อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน
7-9	สาร humectants
8-18	อิมัลชันแบบน้ำมันในน้ำ
15-18	รักษาความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์

ที่มา: Beltz และ Grosch (1999)

นอกเหนือจาก การเลือกใช้อิมัลซิไฟเออร์ที่เหมาะสม ความคงตัวของอิมัลชันยังขึ้นอยู่กับปัจจัยด้านสภาพแวดล้อมต่างๆ ทั้งค่าพีเอชหรือค่าความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน อุณหภูมิและระยะเวลาในการผสม รวมถึงสภาวะการเก็บรักษา โดยมีรายละเอียดดังนี้

1) พีเอชของอิมัลชัน

พีเอช หรือ ความเป็นกรด-ด่างของอิมัลชัน ส่งผลต่อความคงตัวของอิมัลชันได้เนื่องจากอิมัลซิไฟเออร์แต่ละชนิด จะทนต่อสภาพพีเอชต่างๆ ได้แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.3 ด้วยเหตุนี้ การเลือกชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ จำเป็นต้องคำนึงถึงค่าพีเอชของระบบ เพื่อให้อิมัลซิไฟเออร์มีประสิทธิภาพในการทำงานสูงสุดซึ่งจะทำให้อิมัลชันที่ได้มีความคงตัวมากที่สุดเช่นกัน

ตารางที่ 2.3 ผลของพีเอชและชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ต่อความคงตัวของอิมัลชัน

สภาวะทดสอบ	ชนิดอิมัลซิไฟเออร์		
	anionic	Onionic	cationic
pH>7	/	/	-
pH=7, ไม่มีเกลือ	/	/	/
pH=7, มีเกลือโพลิวาลেন্ট	-	/	-
pH<7	-	/	/

หมายเหตุ เครื่องหมาย (/) หมายถึง อิมัลชันมีความคงตัวดี, เครื่องหมาย (-) หมายถึง อิมัลชันเสียสภาพ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Balsam และ Sagarin (1974)

นอกจากนี้ Aoki และ คณะ (2005) รายงานว่า การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชส่งผลต่อ ζ -potential ของอนุภาคน้ำมัน อีกทั้งยังเร่งให้เกิดการเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันของหยดน้ำมันซึ่งจะนำไปสู่การเสียสภาพในที่สุด

2) อุณหภูมิที่ใช้ในการผสม

การใช้อุณหภูมิผสมสูงประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส มีส่วนช่วยในการหลอมละลายน้ำมันเพื่อให้เหมาะสมต่อการเตรียมอิมัลชัน แต่ในทางกลับกัน การเพิ่มอุณหภูมิทำให้ความหนืดและแรงตึงผิวของเฟสกระจายตัวลดลง การดูดซับอิมัลซิไฟเออร์ที่พื้นผิวสัมผัสจึงต่ำลง ย่อมส่งผลให้อิมัลชันมีความคงตัวลดลง

ตามไปด้วย รวมถึง ยังพบการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของอิมัลซิไฟเออร์ทำให้ประสิทธิภาพลดลง และการใช้อุณหภูมิสูงเกินกว่า 85 องศาเซลเซียส จะเร่งการเกิดไฮโดรไลซิสของอิมัลซิไฟเออร์ได้อีกด้วย (Sherman, 1968) การใช้อุณหภูมิผสมสูงทำให้อิมัลชันมีความคงตัวลดลง

3) ระยะเวลาในการผสม

ในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชัน การปั่นผสมจะทำให้เฟสทั้งสองกระจายตัวออกจากกัน โดยเฟสกระจายตัวจะมีขนาดอนุภาคลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 2-3 วินาทีแรก ซึ่งอนุภาคจะมีขนาดเล็กที่สุดเมื่อปั่นผสมเป็นเวลาไม่เกิน 5 นาที แต่เมื่ออนุภาคของเฟสทั้งสองกระจายตัวในระดับสูงสุดแล้ว มีแนวโน้มว่าอนุภาคบางส่วนจะกลับมารวมตัวกัน ทำให้มีขนาดใหญ่อขึ้น ดังนั้น การใช้เวลาในการผสมนานเกินไป ย่อมทำให้ความคงตัวของอิมัลชันลดลง (Sherman, 1968)

4) สภาพการเก็บรักษาอิมัลชัน

การเปลี่ยนแปลงสภาพแวดล้อมทั้งการให้ความร้อน การให้ความเย็น หรือการสัมผัสเหวี่ยงจากการขนส่ง ล้วนแต่ส่งผลต่อความคงตัวของอิมัลชันให้มีค่าลดลงทั้งสิ้น ดังที่มีรายงานว่า การเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระแก่ระบบ ส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่ของโมเลกุลภายในระบบเพิ่มมากขึ้น ทำให้หยดนํ้ามันมีแนวโน้มรวมตัวกันมากขึ้น การเสถียรภาพจึงเกิดได้เร็วขึ้น (Frankel, 1993; Guzey และ McClements, 2006)

2.2 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ไขมัน เป็นองค์ประกอบที่พบได้ทั่วไปในอาหาร นอกเหนือจากการเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของร่างกาย และแหล่งของกรดไขมันที่จำเป็นแล้ว ยังช่วยส่งเสริมลักษณะทางประสาทสัมผัสของกลิ่นรสในอาหาร โดยเฉพาะความรู้สึกในปาก (mouth feel) ได้อีกด้วย ไขมันเหล่านี้ จะง่ายต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเป็นปฏิกิริยาเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวอิสระ หรือกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ในอาหารประเภทไขมันและน้ำมัน ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเป็นสาเหตุสำคัญของการสูญเสียคุณค่าทางอาหาร ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพมีกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และลักษณะปรากฏไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค รวมถึงอาจก่อให้เกิดอันตรายในการบริโภค

2.2.1 กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (lipid oxidation) หมายถึง การเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาระหว่างไขมันกับออกซิเจน (oxygen-active species) ในรูปแบบต่างๆ ซึ่งเป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เอง หรือที่เรียกว่า ออโตออกซิเดชัน (auto-oxidation) โดยภายหลังจากการที่ออกซิเจนทำปฏิกิริยาที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวแล้ว ได้เป็นกลุ่มของผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นต่างๆ เช่น ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) และสารประกอบที่ระเหยได้ เป็นต้น ซึ่งกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอน (Nawar, 1996; Frankel, 1998; Min, 1998)

1) ขั้นเริ่มต้น (initiation)

ในขั้นเริ่มต้นเป็นขั้นที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น อาจเกิดจากเกิดการสลายพันธะไฮโดรเจนที่พันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันภายใต้สภาวะแรงต่างๆ เช่น โลหะ แสง ความร้อน ดังสมการ (1)



ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นในขั้นนี้ คือ อนุมูลอิสระของกรดไขมัน ($L_1\cdot$) ที่มีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวในโครงสร้างและอยู่ในสถานะที่ไม่เสถียร โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นนี้จะเข้าทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เพื่อดึงไฮโดรเจนอะตอม นอกจากนี้ยังพบว่า อนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl, $\cdot OH$) เป็นอนุมูลที่เร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ในระดับสูง เมื่อกรดไขมันทำปฏิกิริยากับอนุมูลไฮดรอกซิล และอนุมูลไฮโดรเปอร์ออกซิล (hydroperoxyl, $\cdot OOH$) จะได้เป็น อนุมูลอัลคอกซิล (alkoxyl, $LO\cdot$) และอนุมูลเปอร์ออกซิล (peroxyl, $LOO\cdot$) ซึ่งมีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาสูง (Laguette และ คณะ, 2007)

2) ขั้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง (propagation)

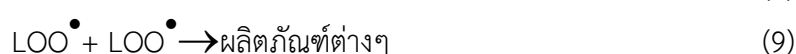
ในขั้นนี้ อนุมูลอิสระของกรดไขมัน ($L_1\cdot$) ที่เกิดขึ้นเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดเป็นอนุมูลเปอร์ออกซิล ($L_1OO\cdot$) (สมการ (2)) ซึ่งอนุมูลที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวอื่น โดยดึงไฮโดรเจนอะตอมออก เกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (L_1OOH) และอนุมูลอิสระของกรดไขมันที่ไม่คงตัว ($L_2\cdot$) ดังสมการ (3) โดยจะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อเนื่องกันไปเรื่อยๆ



อย่างไรก็ตาม การเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในขั้นตอนนี้ ส่งผลให้กรดไขมันต้องจัดเรียงโครงสร้างพันธะคู่ใหม่ (double bond rearrangement) เพื่อให้มีความเสถียรมากที่สุด ในรูป conjugated dienes และ trienes (Laguette และ คณะ, 2007) นอกจากนี้ ยังพบว่า ปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เพิ่มสูงขึ้นจนมีค่ามากที่สุด สามารถบ่งชี้ถึงการเข้าสู่ปฏิกิริยาขั้นสิ้นสุดซึ่งเป็นปฏิกิริยาขั้นสุดท้ายของการออกซิเดชันของไขมันได้อีกด้วย (Frankel, 1998)

3) ขั้นสิ้นสุด (termination)

ปฏิกิริยาในขั้นนี้ อนุมูลอิสระต่างๆ ที่เกิดขึ้นอาจรวมตัวกันเองในรูปแบบต่างๆ กลายเป็นสารที่มีความคงตัว และทำให้ปฏิกิริยาลับดับลงตามสมการ (4)-(9) โดยทั่วไปแล้ว ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ จะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิที่ไม่ใช่อนุมูลอิสระ (secondary nonradical oxidation compounds) และยังพบว่า การสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่พันธะคู่ใกล้หมู่ไฮดรอกซิล จะได้ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิในกลุ่มของสารประกอบไฮโดรคาร์บอน อัลดีไฮด์ แอลกอฮอล์ และคีโตนที่ระเหยได้ เป็นต้น (Laguette และ คณะ, 2007)

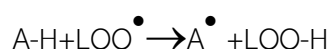


นอกจากนี้ อัตราการเกิดออกซิเดชันของไขมันยังเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมัน กรดไขมันอิ่มตัว ปริมาณออกซิเจน อุณหภูมิ แสง พื้นที่ผิวสัมผัส ปริมาณเกลือ ความเป็นขี้ ลักษณะทางกายภาพ (ของแข็ง ของเหลว หรืออิมัลชัน) สภาวะการเกิดออกซิเดชัน ตัวกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา (prooxidation) เอนไซม์ ความชื้น และสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (McClements และ Decker, 2000)

2.2.2 การยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันนั้นนิยมใช้สารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ โดยกลไกการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันสามารถทำได้ 2 แบบ คือ การป้องกันไขมันไม่ให้เกิดปฏิกิริยากับสารตั้งต้นในสภาวะเร่งต่างๆ และการชะลอปฏิกิริยาในขั้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง (propagation) สารต้านออกซิเดชันที่สมบัตินั้นสามารถต้านออกซิเดชันแบบแรก มีความสามารถในการป้องกันการเกิดอนุมูลที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาต่างๆ (reactive oxygen species, ROS) หรือ เป็นกลุ่มที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาในขั้นเริ่มต้นได้ ซึ่งกลไกการป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันสามารถทำได้หลายวิธี ทั้งการคีเลทโลหะ ทำลาย singlet oxygen ยับยั้งเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการสร้างอนุมูลที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยา ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรออกซิแดนซ์ เป็นต้น โดยมีรายงานว่า กรดฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มีสมบัติในการคีเลทโลหะที่ดี เนื่องจากมีโครงสร้างแบบ o-diphenolic ที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันจึงสูงมาก (Rice-Evans และคณะ, 1997) อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงหมู่ไฮดรอกซิลที่ตำแหน่งดังกล่าวของฟลาโวนอยด์จะส่งผลให้ความสามารถในการคีเลทโลหะลดลง แม้ว่าการยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันผ่านกลไกนี้ เกิดขึ้นน้อยกว่าการทำลายอนุมูลที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาโดยตรง แต่ก็มีความจำเป็นในการป้องกันการทำลาย DNA (Sestili และคณะ, 1998; Van Acker และคณะ, 1998)

ส่วนสารต้านออกซิเดชันที่ทำลายปฏิกิริยาลูกโซ่ได้นั้น ต้องมีสมบัติให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลเปอร์ออกซิล ($\text{LOO}^\bullet$) และอนุมูลที่เกิดจากการทำปฏิกิริยา ($\text{A}^\bullet$) ต้องมีความเสถียร ไม่มีความว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาอีก ดังสมการ



กลุ่มของสารต้านออกซิเดชัน ที่มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันผ่านกลไกชนิดนี้ ได้แก่ โทโคฟีรอล โทโคไตรอีนอล ฟลาโวนอยด์ กรดฟีนอลิก เบต้า-แคโรทีน และสตีลปิน เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชัน ขึ้นอยู่กับโครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิด เช่นเดียวกับที่พบในกลุ่มที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระได้ (Laguette และ คณะ, 2007)

นอกเหนือจาก สารต้านออกซิเดชัน จะมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่ดีแล้ว สมบัติการเป็นสารโปร-ออกซิแดนซ์ ก็ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ต้องพิจารณาเนื่องจาก ในสภาวะที่เหมาะสมบางประการ เช่น มีโลหะ มีออกซิเจนจำนวนมาก เป็นต้น สารต้านออกซิเดชันอาจมีสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนซ์หรือเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ดังเช่น การใช้ฟลาโวนอยด์เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยในสภาวะที่มีโลหะ Cu^{2+} เนื่องจาก โลหะเข้าทำปฏิกิริยากับหมู่โปรตีน β -phycoerythrin ทำให้มีสมบัติเร่งการเกิดอนุมูล ไฮดรอกซิลได้ (Cao และคณะ, 1997) นอกจากนี้ ในสภาวะที่มีโลหะยังเหนี่ยวนำให้สารต้านออกซิเดชันหลายชนิดในกลุ่มฟลาโวนอยด์ เช่น เควอซีติน ไมริซีติน และ เคมฟารอล มี

สมบัติโปร-ออกซิแดนซ์ในระดับ DNA ได้ (Sahu และคณะ, 1993) ส่วนการใช้เบต้า-แคโรทีนมีรายงานว่า การเพิ่มปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 150 ทอร์ (torr) ทำให้เบต้า-แคโรทีนสูญเสียสมบัติการต้านออกซิเดชันและแสดงสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนซ์ อีกทั้ง อัตราการออกซิเดชันยังเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่ใช้อีกด้วย (Burton และ Ingold, 1984)

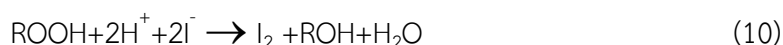
2.2.3 การวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมัน

การประเมินความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน ของสารต้านออกซิเดชันทั้งที่สังเคราะห์ขึ้นหรือได้จากธรรมชาติ สามารถทำได้หลายวิธี ซึ่งปัจจัยสำคัญที่ทำให้ผลการทดลอง ที่ได้มีความน่าเชื่อถือ คือ วิธีการทดสอบนั้นต้องมีความจำเพาะต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันและแสดงถึงกลไกในการต้านออกซิเดชันที่แท้จริง โดยสามารถแบ่งแยกวิธีวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันที่สารต้านออกซิเดชันเข้าทำปฏิกิริยากับไขมันโดยตรง ออกเป็น 4 แบบใหญ่ ๆ คือ วัดการลดลงของออกซิเจน วัดการลดลงของสารตั้งต้น วัดปริมาณผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิและวัดปริมาณผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิที่เกิดขึ้น (Laguerre และ คณะ, 2007)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยการวัดปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาออกซิเดชันทั้งในขั้นปฐมภูมิและขั้นทุติยภูมิล้วนได้รับความนิยมเป็นอย่างมาก พบการประยุกต์ใช้ทั้งในโมเดลทดสอบ อาหาร หรือแม้แต่ตัวอย่างทางชีวภาพ อีกทั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันที่มีสารผลิตภัณฑ์ทั้งสองกลุ่มขึ้นมานี้ ยังพบการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้อีกด้วย (Laguerre และ คณะ, 2007) โดยวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้สามารถแสดงรายละเอียดได้ดังนี้

1) ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV)

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ เป็นการวัดปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิ (primary oxidation products) ที่ได้จากการออกซิเดชันของไขมัน และวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดวิธีหนึ่ง คือ iodometric assay โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเปอร์ออกไซด์กับไอโอไดต์ไอออน (iodide ion, I^-) ในสภาวะที่เป็นกรดได้เป็นไอโอดีน (I_2) ตามสมการที่ (10)-(11) จากนั้นนำไปไตเตรตหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นด้วยสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต โดยใช้สารละลายแบ่งเป็นอินดิเคเตอร์ ดังสมการที่ (12) (Laguerre และ คณะ, 2007)



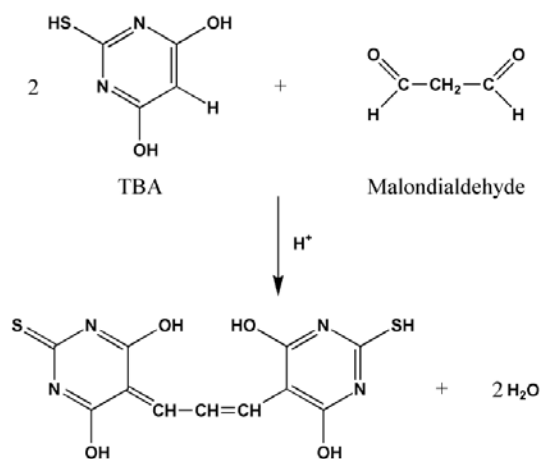
ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV) แสดงถึง ปริมาณออกซิเจนที่ว่องไวต่อการทำปฏิกิริยาที่พบในไขมัน 1 กรัม โดยปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะพบมากที่สุดในขั้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง จากนั้นมีค่าลดลงจนกระทั่งเข้าสู่ขั้นสิ้นสุด ซึ่งพบว่า อัตราการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์มีค่าสูงกว่าอัตราการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Laguerre และ คณะ, 2007) อย่างไรก็ตาม วิธีนี้มีข้อจำกัดในด้านสภาวะในการทดสอบ เนื่องจาก ไฮโดรเปอร์ออกไซด์สามารถสลายตัวได้ที่อุณหภูมิสูง อีกทั้งในสภาวะที่มีแสงและออกซิเจนจะรบกวนการวิเคราะห์ ทำให้ปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้นอาจมีค่าสูงหรือต่ำกว่าความเป็นจริงได้ (Frankel, 1998)

นอกจากนี้ ระบบการทดสอบที่มีสภาวะเป็นกรดจะเหมาะสมต่อการทดสอบน้ำมัน แต่ไม่

เหมาะกับระบบอิมัลชัน อาหาร หรือตัวอย่างทางชีวภาพที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ดังนั้น จึงจำเป็นต้องมีการสกัดตัวอย่างหรือทำลายระบบอย่างใดอย่างหนึ่ง เพื่อนำส่วนน้ำมันออกมาทดสอบ (Laguerre และ คณะ, 2007)

2) ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS)

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS เป็นการหาปริมาณผลิตภัณฑ์ทุติยภูมิที่ได้จากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ได้แก่ สารในกลุ่มอัลดีไฮด์ คีโตน สารประกอบไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในไขมันและน้ำมันชนิดต่างๆ (Gray, 1978; Hawrysh, 1990) การวิเคราะห์จะอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (malondialdehyde, MDA) กับกรดไทโอบาร์บิวริก (thiobarbutyric acid, TBA) ในสถานะที่เป็นกรด เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีชมพู เรียกว่า Thiobarbutyric acid reactive substances (TBARS) ที่สามารถวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร การต้านออกซิเดชันของไขมันเป็นผลจากกลไกหลายกลไกร่วมกัน เช่น การเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมจากสารต้านออกซิเดชันไปยังอนุมูลเปอร์ออกซิล หรือ อัลคอกซิล เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของไขมัน จากนั้นปฏิกิริยาระหว่าง MDA ที่เกิดขึ้นกับ TBA จะใช้ทดสอบปริมาณการออกซิเดชันของไขมัน (ภาพที่ 2.8)



ภาพที่ 2.8 การเกิดปฏิกิริยาระหว่างมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) และกรดไทโอบาร์บิวริก (TBA)
ที่มา : Antolovich และ คณะ (2001)

ความสามารถในการต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน อาจแสดงในรูปเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (% antioxidant activity, AOA) หรือ เปอร์เซ็นต์ การยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน (% inhibition) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน เช่น BHT วิตามินเอ หรือ วิตามินซี เป็นต้น วิธีนี้นิยมใช้วัดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจาก ไขมันเป็นชีวโมเลกุลที่มีโครงสร้างทางเคมีที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (โอภา วัชรคุปต์, 2549) แต่วิธีนี้มีข้อจำกัด คือ เป็นวิธีที่ไม่เฉพาะเจาะจงกับผลผลิตทั้งหมดที่เกิดจากการออกซิเดชันของไขมัน อีกทั้ง กรดไทโอบาร์บิวริกยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ เช่น โปรตีน กรดอะมิโน น้ำตาล เกิดเป็นสารประกอบที่มีสีได้เช่นเดียวกัน (Antolovich และ คณะ,

2001) จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาวิธีวิเคราะห์ให้มีความแม่นยำยิ่งขึ้น โดยวิเคราะห์รวมกับการวัดแสงฟลูออเรสเซนส์ หรือ เครื่อง LC-MS

3) ค่า *p*-Anisidine (*p*-Anisidine Value, *p*-AV)

การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation products) อีกวิธีหนึ่งที่ได้รับค่านิยม คือ การหาค่า *p*-Anisidine (*p*-AV) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิลของอัลดีไฮด์กับหมู่เอมีนของ *p*-Anisidine สามารถติดตามการเกิด Schiff base ได้โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไปที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร วิธีนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สารประกอบอัลดีไฮด์ที่ไม่ระเหยในกลุ่ม 2- อัลคีนัล และ 2,4 แอลคาไดอีนัล (Shahidi และ Wanasundara, 2007) รวมถึงยังเป็นการวัดปริมาณสารประกอบอัลดีไฮด์ทั้งหมด เนื่องจากการทำปฏิกิริยาโครงสร้างของหมู่อัลดีไฮด์โดยตรง สามารถเรียงลำดับความจำเพาะของ *p*-Anisidine กับโครงสร้างของอัลดีไฮด์จากมากไปน้อยได้ ดังนี้ อัลดีไฮด์ที่มีพันธะคู่ 2 คู่, อัลดีไฮด์ที่มีพันธะคู่ 1 คู่และอัลดีไฮด์อิ่มตัว (Laguerre และ คณะ, 2007) นอกจากนี้ ค่า *p*-AV ยังมีความสัมพันธ์กันดีกับปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V) อีกด้วย

อย่างไรก็ดี ข้อจำกัดของวิธีนี้ คือ สารประกอบฟีนอลบางชนิดอาจรบกวนการวิเคราะห์ได้ เช่น decarboxymethyl oleuropein dialdehyde ที่เป็นองค์ประกอบในน้ำมันมะกอก

2.2.4 การเกิดออกซิเดชันของไขมันในระบบอิมัลชัน

ถึงแม้ว่า ระบบอิมัลชันจะมีหลายชนิดทั้งประเภทน้ำในน้ำมัน (W/O) และ น้ำในน้ำมัน (W/O) แต่การเกิดออกซิเดชันของไขมันในระบบอิมัลชันก็มีความคล้ายคลึงกัน โดยเฉพาะบริเวณพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างเฟสทั้งสอง ถือเป็นปัจจัยสำคัญที่เกี่ยวข้องกับการออกซิเดชันของไขมัน เนื่องจากสารต้านออกซิเดชัน สารโปร-ออกซิแดนท์ และไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นจะสะสมอยู่ที่บริเวณดังกล่าว ดังนั้น การเปลี่ยนแปลงสมบัติของพื้นที่ผิวสัมผัสดังกล่าว เช่น การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ชนิดของอิมัลซิไฟเออร์และความเข้มข้นที่ใช้ ขนาดของอนุภาค อุณหภูมิ การใช้สารเพิ่มคงตัวจากโปรตีน กรดอะมิโน หรือ โพลีแซคคาไรด์ เป็นต้น ล้วนส่งผลต่อการเกิดออกซิเดชันของไขมันทั้งสิ้น (McClements และ Decker, 2000) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า อัตราการออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมัน (W/O) มีค่าใกล้เคียงกับการออกซิเดชันของน้ำมันมาก เนื่องมาจากน้ำมันในอิมัลชันเป็นส่วนที่สัมผัสกับอากาศโดยตรง (Fritsch, 1994)

สำหรับกลไกที่สำคัญของการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ เกิดขึ้นจากสารโปร-ออกซิแดนท์ เช่น โลหะ ที่สามารถเร่งปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งนำไปสู่การเกิดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซิล (peroxyl radical) และ อัลออกซิล (alkoxyl radical) จากนั้น อนุมูลอิสระเหล่านี้จะเร่งการตัดโมเลกุลของไขมัน ส่งผลให้เกิดสารระเหยที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก ที่เป็นสาเหตุของกลิ่นหืนในผลิตภัณฑ์ (Nawar, 1996) ดังนั้น การเติมสารต้านออกซิเดชันที่สามารถทำลายอนุมูลอิสระ จึงเป็นกลไกที่สำคัญและมีประสิทธิภาพสูงในการรบกวนหรือยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระในขั้นปฏิกิริยาต่อเนื่อง ซึ่งเป็นขั้นตอนเริ่มต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร (Halliwell, 1990)

นอกจากนี้ สารต้านออกซิเดชันยังมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเป็นไปตามทฤษฎี antioxidant polar paradox hypothesis ที่ได้กล่าวไว้ว่า ประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับพฤติกรรมการแบ่งส่วน (partition behavior) ในอาหาร โดยสารต้านออกซิเดชันประเภทที่ชอบน้ำ

(hydrophilic antioxidant) จะมีประสิทธิภาพดี เมื่อใช้น้ำมันมากกว่าการใช้สารต้านออกซิเดชันประเภทที่ชอบน้ำมัน (lipophilic antioxidant) ซึ่งประสิทธิภาพดังกล่าวเป็นผลพวง เนื่องมาจาก สารต้านออกซิเดชันที่รวมตัวในตำแหน่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะป้องกันการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวในระบบอิมัลชันได้ดีกว่า (Frankel, 1996)

2.3 การประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

อุตสาหกรรมอาหาร ได้หันมาสนใจประสิทธิภาพของสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่พบในอาหาร ซึ่งสารสกัดจากพืชนั้นมีสมบัติที่ดีในการต้านอนุมูลอิสระ และสามารถต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ เนื่องจากประกอบด้วยสารพฤษเคมีต่างๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น อีกทั้งกระแสด้านอาหารในปัจจุบัน ไม่นิยมการใช้สารกันเสีย สารกันหืน หรือสารเติมแต่งอาหารที่สังเคราะห์ขึ้นในผลิตภัณฑ์อาหาร ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ในการใช้พืชหรือสารสกัดจากพืชในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน โดยพืชทั้ง 10 ชนิดที่ใช้การศึกษาครั้งนี้ มีข้อมูลทั่วไปเกี่ยวกับชื่อและลักษณะทางพฤกษศาสตร์ รวมถึง สรรพคุณและการใช้ประโยชน์ ตามรายละเอียด ดังนี้

2.3.1 ราชวดีป่า (*Buddleia asiatica* Lour วงศ์ BUDDLEJACEAE)

ราชวดีป่าเป็นยากลางบ้าน โดยใช้ทั้งต้นแก้โรคผิวหนัง ขับระดู และทำให้แท้ง ส่วนชาวเขาเผ่าต่างๆ เช่น ปะหล่อง กะเหรี่ยง ม้ง อีเก้อ และมูเซอ ใช้ส่วนต่างๆ ของแก้โรคผิวหนัง ผดผื่นคัน แก้เชื้อราตามตัว นอกจากนี้ ในประเทศฟิลิปปินส์และเวียดนาม ก็ใช้ราชวดีป่าในการ แก้โรคผิวหนังเช่นเดียวกัน ส่วนจีนใช้รากแห้งแก้โรคมะเร็ง ปวดใช้ต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลัง (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

Lemmens และ Bunyapraphatsara (2003) รายงานว่า น้ำมันหอมระเหยจากใบมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อราที่เป็นสาเหตุของโรคหลอดลมและปอด โดยมีองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ β -caryophyllene epoxide, citalonellol และ β -caryophyllene เป็นต้น

2.3.2 ตั้วเกลี้ยง (*Cratoxylum cochinchinense* (Lour.) Blume วงศ์ CLUSIACEAE)

โดยทั่วไป กินยอดและใบอ่อนของตั้วเกลี้ยงเป็นผัก นอกจากนี้ ยังใช้ใบต้มผสมกับน้ำมะพร้าวแก้โรคผิวหนังได้อีกด้วย ส่วนชาวเขากินยอดอ่อนเป็นผักสด ผักจิ้ม หรือปรุงเป็นแกงต่างๆ เผ่ามูเซอใช้รากต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงกำลัง แก้อ่อนเพลีย แก่ภาวะโลหิตจาง ชีตผอม (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

แซนโทน เป็นองค์ประกอบสำคัญที่มักพบในส่วนต่างๆ ของตั้วเกลี้ยง เช่น ในเปลือกพบบแซนโทนและไตรเทอร์พีนอยด์ (Hao Dieu Nguyen และ Harrison, 1998) ส่วนรากประกอบด้วยแซนโทนและอนุพันธ์ คือ cochinchinones A-D (Mahabusarakam และ คณะ, 2006) อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.3.3 ส้มกุ่ม (*Embelia sessiliflora* Kurtz วงศ์ MYRSINACEAE)

ชาวเขาแทบทุกเผ่ากินผลสุกและใช้ยอดอ่อน ดอกอ่อน และใบอ่อน กินเป็นผักสดหรือปรุงใส่แกง ปะหล่องใช้น้ำจากลำต้นหยอดตาแก้ตาแดง ม้งใช้รากต้มน้ำดื่ม แก้ท้องเสีย จีนฮ่อใช้ใบอ่อนคั่วกับเหล้าขง

เป็นชาดื่มบำรุงกำลัง มูเซอใช้รากต้มน้ำดื่มเป็นยาเรงน้ำนมสำหรับสตรีคลอดบุตร แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ก)

2.3.4 ตะไคร้ตัน (*Litsea cubeba* Pers. วงศ์ LAURACEAE)

ตะไคร้ตันเป็นยากลางบ้าน โดยใช้รากแก้ขัดเบา แก้ปัสสาวะพิการ ขับลมในลำไส้ ส่วนชาวเขาทุกเผ่า ใช้ผลดิบเป็นเครื่องเทศ ดองน้ำปลาหรือน้ำเกลือกินเป็นกับแกล้ม หรือใส่ในแกง จีนฮ่อใช้กิ่งต้มน้ำอาบและดื่มแก้โรคเกี่ยวกับมดลูก ในอินโดนีเซียใช้ผลดิบกินเป็นเครื่องเคียงและ ใช้แทนพริกหาง (*Piper cubeba*) เวียดนามผสมดอกในชาเพื่อให้มีกลิ่นหอม จีน ญี่ปุ่นและไต้หวันสกัดน้ำมันหอมระเหยมาใช้ทำน้ำหอมและเครื่องหอม (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

น้ำมันหอมระเหยของตะไคร้ตันมีสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นคล้ายส้มสด หรือ มะนาวสด ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ คือ ซิตรัล (citral) และพบลิโมนีน อัลฟา-ไพนีน (α -pinene) เบตา-ไพนีน (β -pinene) methyl-heptenone และ linalool เป็นต้น (Oyen และ Dung, 1999)

Hwang และ คณะ (2005) รายงานว่า สารสกัดเมทานอลจากเปลือกของตะไคร้ตัน มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงกว่ากรดแอสคอร์บิก และ α -tocopherol อีกทั้งยังสามารถทำลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดี นอกจากนี้ สารสกัดจากเปลือกตะไคร้ตันยังมีฤทธิ์ต้านการอักเสบอีกด้วย (Choi และ Hwang, 2004)

2.3.5 หมีเหม็น (*Litsea glutinosa* (Lour.) C.B. Rob. วงศ์ LAURACEAE)

หมีเหม็นเป็นยากลางบ้าน โดยใช้รากแก้ปวดกล้ามเนื้อ เปลือกลำต้นแก้ท้องเสีย ภูมิแพ้ หิด ใบตำพอกแก้ฝี ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่าใช้ผลดิบเป็นเครื่องเทศ นำเปลือกและใบมาตำพอกบริเวณที่ปวดกระดูกหรือแก้กระดูกหัก กระเทียมและมูเซอใช้เปลือกและใบตำพอกหรือต้มน้ำอาบ แก้แผลพุพอง ขจัดเชื้อราตามร่างกาย รวมถึง เห็บและเหา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

น้ำมันหอมระเหยจากเปลือกหมีเหม็น มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา และแบคทีเรียบางชนิด โดยองค์ประกอบสำคัญที่พบในเปลือกและยางจากลำต้น ได้แก่ แอลคาลอยด์หลายชนิด เช่น laurelliptine, laurotetanine, irriodenene และ litseferine เป็นต้น (นันทวัน บุญยะประภัศร และ คณะ, 2543ข; ก่องกานดา ชยามฤต, 2540) นอกจากนี้ เปลือกของหมีเหม็น ยังให้ผลบวกในการทดสอบเบื้องต้นของสารในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ สเตอรอยด์ ไตรเทอร์พีนอยด์ ซาโปนิน และแทนนิน (Mandal และ คณะ, 2000)

2.3.6 ผักสมุย (*Micromelum minutum* Wight & Arn วงศ์ RUTACEAE)

โดยทั่วไป กินยอดอ่อนเป็นผักสดหรือเครื่องเคียง และสามารถใช้เป็นยากลางบ้านเพื่อ ขับเลือดลม บำรุงธาตุ แก้หนองใน ส่วนชาวเขาโดยทั่วไปใช้ยอดอ่อนและใบอ่อน กินเป็นผักสดหรือผักจิ้ม กระเทียมไทยใหญ่ และพม่าใช้รากต้มน้ำดื่มแก้ท้องเสีย ท้องเดิน และใช้รากผสมใบต้มน้ำดื่มเป็นยาแก้ไข้ ปะหล่องใช้ทุกส่วนของต้นต้มน้ำอาบสำหรับผู้สูงอายุ ในมาเลเซียใช้ใบ ตำพอกแก้ผื่นคันและโรคผิวหนัง ในฟิลิปปินส์ใช้ใบและรากเป็นยาแก้ไข้ ส่วนฟิจิใช้ใบและเปลือกในการแก้อาเจียน แก้อาการคลื่นไส้ ปากอักเสบด้วยเชื้อรา ปวดหัว ปวดท้อง ใช้ใบต้มน้ำดื่มเป็นยาบำรุงเสริมสุขภาพ (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

ในผักสมุย มีสาร micromilin และ microminutin ที่มีฤทธิ์ต้านมะเร็งเม็ดเลือดขาวชนิด P-388 lymphocytic leukemia (van Valkenburg และ Bunyaprapatsara, 2001) นอกจากนี้ ผักสมุยยังมีองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ คูมารินอย่างน้อย 12 ชนิด เช่น micromarin A, B, C, F, G และ H, murrangatin, osthol และ murralongin เป็นต้น รวมทั้งสารอื่นๆ เช่น เบตา-ซีโตสเตอรอล hentriacontane, imperatorin, limettin และ melin A เป็นต้น (นันทวัน บุญยะประกฤษ และ คณะ, 2543 ข) ส่วน Sohrab และ คณะ (2004) รายงานว่า สามารถแยก 5,7-dihydroxy-3,4',6,8'-tetramethoxyflavone และ อนุพันธ์ของกรดไดไฮโดรซินนามิก (dihydrocinnamic acid) จากผักสมุยในประเทศไทย รวมถึง ยังพบรายงานการแยกแอลคาลอยด์จากใบ คือ 2',2'-dimethyl-pyrano-(5',6',-3,4)-2-quinolone ในใบผักสมุยด้วยเทคนิคThin Layer Chromatography (วิศิรา วัชรโรจน์, 2523) และคาร์บาโซล แอลคาลอยด์ (carbazole alkaloid) ในกิ่งผักสมุยด้วยเทคนิคคอลัมน์โครมาโทกราฟี (Nakahara และ คณะ, 2002) ตลอดจน การแยกสเตอรอล (sterol) จากเปลือกต้นของผักสมุยอีกด้วย (วิมล ตันติไชยากุล, 2528)

2.3.7 ผักฮ้านน้ำ (*Mosia dianthera* (Buch-Ham. ex Roxb.) Maxim. วงศ์ LABIATAE)

โดยทั่วไป ใ้ยอดอ่อนเป็นเครื่องเทศใส่ในแกงต่างๆ ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่าใ้ยอดอ่อนเป็นเครื่องเทศเช่นเดียวกัน ปะหล่องใช้ทั้งต้นต้มอาบให้เด็กที่หายไข้ใหม่ๆ เพื่อช่วยฟื้นไข้ ส่วนกะเหรี่ยง ใส่ใบตากแห้งลงในข้าวเปลือกเพื่อป้องกันเชื้อรา ในประเทศจีนใช้น้ำต้มจากทั้งต้นเป็นยาทาแก้โรคผิวหนังบางชนิด หรือ ต้มเป็นยาแก้ลมและแก้ปวดศีรษะ แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

2.3.8 ผักไผ่ (*Persicaria odorata* (Lour.) Soja'k วงศ์ POLYGONACEAE)

โดยทั่วไป กินยอด ใบ และลำต้นเป็นผักสด ผักจิ้ม เครื่องเคียง ตลอดจนใช้เป็นเครื่องเทศในแกงต่างๆ และเป็นยากลางบ้าน โดยใช้ใบตำหรือคั้นน้ำผสมเหล้าโรงทาแก้ผื่นคัน ใบใช้ขับลม แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ส่วนชาวเขาแทบทุกเผ่ากินทั้งต้นเป็นผักสด ผักจิ้ม หรือใช้เป็นเครื่องเทศเช่นเดียวกัน ในประเทศเวียดนามใช้เป็นเครื่องเคียงในอาหารต่างๆ สามารถใช้ใบแก้อาเจียน หรือคั้นน้ำทาแก้กลาก และแผลเปื่อย หรือต้มแก้พิษงูกัด (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551ข)

น้ำมันหอมระเหยของผักไผ่ มีสารในกลุ่มอัลเคนแอลดีไฮด์ (alkane aldehydes) เป็นองค์ประกอบสำคัญ ทำให้มีกลิ่นและรสคล้ายกลิ่นของใบมะนาว ผักชี และผักกาดหัวผสมกัน นอกจากนี้ นวลศรี รักอริยธรรม และ อัญญา เจนวิสิสุข (2546) รายงานว่า พบสารต้านออกซิเดชันในผักไผ่หลายชนิด เช่น เบตา-แคโรทีน แซนโทฟิลล์ วิตามินซี วิตามินอี แทนนิน และสารประกอบฟีนอลิก แต่จัดเป็นพืชที่มีดัชนีแอนติออกซิแดนท์ต่ำ คือ 3.68 และยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.3.9 ทะโล้ (*Schima wallichii* (D.C.) Korth. วงศ์ THEACEAE)

ทะโล้ เป็นยากลางบ้าน โดยใช้ดอกแห้งชงน้ำแทนชาให้สตรีหรือสตรีหลังคลอดดื่มแก้โรคเกี่ยวกับมดลูก แก้อาการขัดเบา ใช้เปลือกตำพอกแผล นอกจากนี้ยังพบว่า เปลือกทะโล้ใช้เบื่อปลาและกำจัดเหา

ส่วนชาวเขาเผ่าจีนฮ่อใช้ใบอ่อนตากแห้งชงแทนชา ช่วยทำให้ชุ่มคอ แก้กระหายน้ำ กะหรี่ปั๊วใช้ยอดอ่อนแช่น้ำ ต้มแก้อาการปวดเมื่อย เนื่องจากอาการไข้ ใช้เปลือกลำต้นคั้นน้ำดื่ม แก้ไอ แก้ไข้ ปะหล่องใช้ยอดอ่อนคลุกเกลือ กินเป็นยาแก้ปวดท้อง ท้องอืด ท้องเฟ้อ ส่วนมังและเย้าใช้ใบอมหรือเคี้ยวกินเป็นยาแก้ปวดฟัน แก้แผลในปาก เหงือกเป็นหนอง ต้มน้ำดื่มแก้อาการปวดภายในร่างกาย แก้ท้องร่วง ท้องเดิน และม้ามโต ในหลายประเทศใช้ ดอกเป็นยากลางบ้าน แก้ปัสสาวะผิดปกติ ปัสสาวะติดขัด และมดลูกอักเสบ (สุธรรม อารีกุล และ คณะ, 2551 ค)

สารสกัดหยาบจากใบและผลของทะเล่ ประกอบด้วย ซาโปนินที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อรา *Epidermophyton floccosum*, *Crosporum gypseum* และ *Trichophyton mentagrophytes* (พรพิพัฒน์ ณ พัทลุง และ คณะ, 2529) ส่วนดอกทะเล่มีรายงานว่าพบแทนนิน คือ schimawalin A และ B (Yoshida และ คณะ, 1991) แต่ยังไม่พบรายงานวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

ส่วนหญ้าเอ็นเลื่อยยังไม่พบการรายงานการใช้ประโยชน์ รวมถึงข้อมูลทางพฤกษศาสตร์ต่างๆ ทั้งในด้านของชื่อวิทยาศาสตร์ ลักษณะของพืช รวมไปถึงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

2.3.10 การประยุกต์ใช้สารสกัดจากพืชเพื่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชัน

พืชประกอบด้วยสารพฤกษเคมีต่างๆ เช่น สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น สารเหล่านี้มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาต่างๆ เช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชันของ low density lipoprotein, การลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ หรือมีสมบัติการเป็นสารต้านมะเร็ง (William และ Elliot, 1997; Dillard และ German, 2000) นอกจากความสำคัญในแง่ต่อสุขภาพแล้ว นักวิทยาศาสตร์การอาหารยังให้ความสำคัญต่อการนำพืช และสารสกัดจากพืชเหล่านี้มาใช้เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในธรรมชาติ เพื่อยับยั้งและชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน และสารอาหารอื่นๆ ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น การใช้สารสกัดจากต้น ajowan (*Carum copticum*) ในน้ำมันละหุ่ง (Bera และคณะ, 2006) การใช้สารสกัดจากพืชท้องถิ่นต่างๆ ในน้ำมันตับปลา (Borneo และคณะ, 2009) ได้ศึกษาพืชสมุนไพรที่ใช้รักษาโรค และการใช้สารสกัดจากใบโหระพาในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในหมูปดที่ผ่านการปรุงสุก (Juntachote และคณะ, 2006) เป็นต้น อีกทั้งกระแสการบริโภคในปัจจุบัน นิยมการใช้สารกันเสีย สารกันหืน หรือสารเติมแต่งอาหาร ที่ได้จากธรรมชาติในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อลดความเสี่ยงต่อการสะสมของสารพิษ หรือสารเมตาบอไลต์จากสารสังเคราะห์ อันอาจก่อให้เกิดต่อโรคต่างๆ ดังนั้น การนำพืช หรือสารสกัดจากพืชมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจึงมีแนวโน้มความเป็นไปได้สูง

สารประกอบฟีนอลิก เช่น กรดแกลลิก คาทิซิน และเควอซิติน สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันของน้ำมันมะกอกในน้ำได้ และสารประกอบฟีนอลิกทั้ง 3 ชนิดยังแสดงสมบัติการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับความเร็วและความสามารถในการให้ไฮโดรเจนอะตอมของสารประกอบแต่ละชนิด ดังนั้น นอกเหนือจากมีตัวของสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกที่ทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนในอิมัลชันที่แตกต่างกัน (Di Mattia และคณะ, 2009)

สารสกัดจากน้ำของดอกเก็กฮวยเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอการเกิดออกซิเดชันในอิมัลชันของน้ำมันถั่วเหลืองทั้งประเภทน้ำในน้ำมัน และน้ำมันในน้ำได้ดีกว่าโทโคฟีรอล (tocopherol) และ BHA ที่ความเข้มข้น 0.02 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังไม่พบการเสริมฤทธิ์ระหว่าง สารสกัดของดอกเก็กฮวยทั้ง

4 ชนิด กับ TBHQ (Duh, 1999) นอกจากนี้ Abdalla และ Roozen (1999) ยังรายงานการใช้สารสกัดจากเครื่องเทศหลายชนิด เช่น เลมอนบาร์ม (lemon balm), ออริกาโน (oregano) เสท (sage) และไทม์ (thyme) เป็นต้น ในการยับยั้งออกซิเดชันของอิมัลชันของน้ำมันดอกทานตะวันในน้ำ โดยพบว่า สารสกัดเสทเข้มข้น 600 และ 1,200 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิด conjugated diene และสารระเหย เทียบเท่า BHT เข้มข้น 300 พีพีเอ็ม และผลการทดลองยังแสดงให้เห็นว่า สารสกัดของพืชแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการยับยั้งที่แตกต่างกัน เช่น สารสกัดจากออริกาโนจะมีประสิทธิภาพในน้ำมันมากกว่าอิมัลชัน

สารสกัดจากเมล็ดแบล็คเคอร์เร็น และโรสแมรี่ในการยับยั้งการหืนของน้ำมันจากเมล็ดละหุ่ง พบว่าสามารถยืดระยะเวลาในการหืนได้ ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการยับยั้งขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารประกอบ โดย แอลฟา-โทโคฟีลอลจะไม่มีประสิทธิภาพในน้ำมัน และอิมัลชันของน้ำมันละหุ่ง แต่จะให้ผลดีในการยับยั้งการหืนของไตรกลีเซอไรด์ (Samotyja และ Malecka, 2007) นอกจากนี้การเสริมฤทธิ์ของความสามารถในการต้านการออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ อาจทำได้ด้วยการเติม bovine serum albumin ร่วมกับการใช้คาทิซินจากชาทำให้สามารถชะลอการเกิดเปอร์ออกไซด์และ เฮกซานอลได้ (Almajano และ คณะ, 2007)

จากแนวโน้มของผู้บริโภคในปัจจุบัน ที่ต้องการลดปริมาณการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์ ทำให้นักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจในการศึกษาการใช้สารจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น การนำองค์ความรู้ที่มีอยู่ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาสถิตภัณฑ์ เช่น การใช้ประโยชน์จากความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและรงควัตถุ ลดการเหม็นหืนในอาหารและการเปลี่ยนแปลงสี ทำให้สามารถเก็บผลิตภัณฑ์ได้นานขึ้น ดังนั้น การใช้สารกันหืนตามธรรมชาติ สามารถทดแทนการใช้สารเคมีสังเคราะห์ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังเป็นการต้องการของผู้บริโภคในปัจจุบันอีกด้วย

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ตัวอย่างพืช

ตัวอย่างพืชที่ใช้ในการทดลองจำนวน 10 ชนิด ได้รับจากสถานีเกษตรหลวงอ่างขาง อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่ รายชื่อพืชทั้งหมดเรียงลำดับตามชื่อวิทยาศาสตร์ ดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ตัวอย่างพืช

ลำดับ	ชื่อวิทยาศาสตร์	ชื่อ	ส่วนที่ใช้
1	<i>Buddieia asiatica</i> Lour	ราชาวดีป่า	ใบ
2	<i>Cratoxylum cochinchinense</i> (Lour.) Blume	ตัวเกลี้ยง	ใบ
3	<i>Embelia sessiliflora</i> Kurtz	ส้มกุ่ม	ใบ
4	<i>Litsea cubeba</i> Pers.	ตะไคร้ตัน	ใบ
5	<i>Litsea glutinosa</i> (Lour.) C.B. Rob.	หมีเหม็น	ใบ
6	<i>Mosia dianthera</i> (Buch-Ham. ex Roxb.) Maxim.	ผักฮ้านน้ำ	ลำต้น/ใบ
7	<i>Persicaria odorata</i> (Lour.) Soja'k	ผักไผ่	ลำต้น/ใบ
8	<i>Micromelum minutum</i> Wight & Arn	ผักสมุย	ใบ
9	<i>Schima wallichii</i> (D.C.) Korth.	ทะโล้	ใบ
10	-	หญ้าเอ็นเสื่อ	ลำต้น/ใบ

3.1.2 สารเคมี

- กรดแกลลิก (Fluka, ประเทศเยอรมัน)
- กรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- กรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid) (Fisher, ประเทศอังกฤษ)
- กรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid) (Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- กรดอะซีติก (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- กรดไฮโดรคลอริก (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- คลอโรฟอร์ม (Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Carlo, ประเทศอิตาลี)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Merck, ประเทศเยอรมัน)
- โซเดียมไทโอซัลเฟต (Merck, ประเทศเยอรมัน)
- โซเดียมเอไซด์ (Ajex-finechem, ประเทศออสเตรเลีย)

- โฟแทสเซียมไอโอไดด์	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- แป้ง (soluble starch)	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- เอทานอล	(Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- ไอโซออกเทน	(Lab-scan, ประเทศไอร์แลนด์)
- 1,1,3,3-tetraethoxypropane	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH)	(Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2,4,6-tripyrindyl-s-triazine (TPTZ)	(Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)	(Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride (AAPH)	(Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- Fluorescein sodium salt	(Sigma-Aldrich, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)	(Sigma, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- Folin – Ciocalteu reagent	(Carlo, ประเทศอิตาลี)
- Iron (III) chloride hydrate	(Carlo, ประเทศอิตาลี)
- Para-anisidine	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- KH_2PO_4	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- Tween 20	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- Tween 40	(Merck, ประเทศเยอรมัน)
- Span 80	(Croda, ประเทศอังกฤษ)

3.2 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่องชั่ง (4 ตำแหน่ง)	(Sartorius TE 214, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องชั่ง (2 ตำแหน่ง)	(Mettler Toledo PE 3000, ประเทศสวิตเซอร์แลนด์)
- ตู้บลมร้อน	(Mettmert UFB 400, ประเทศเยอรมัน)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	(Mettmert WB 29, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (5,500 rpm)	(Hettich Zentrifugen EBA 20, ประเทศเยอรมัน)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (9,000 rpm)	(Thermo Scientific Legend Mach 1.6R, ประเทศอังกฤษ)
- ปิเปตอัตโนมัติ	(Eppendorf, ประเทศเยอรมัน)

- 96 well microtiter plate (Sero-Wel, Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ)
- 96 black well microtiter plate (Sero-Wel, Bibby Sterilin, ประเทศอังกฤษ)
- Microtiter Plate Reader (Beckman coulter Multimode Detector DTX 880, ประเทศสหรัฐอเมริกา)
- Spectrophometer (Shimazu 1700, ประเทศญี่ปุ่น)
- Hot plate magnetic stirrer (IKA C-MAG HS 7, ประเทศเยอรมัน)
- Homogenizer (IKA T25 digital ultra-turrax, ประเทศเยอรมัน)
- หัวปั่น S25N-25F (IKA S25N-25F, ประเทศเยอรมัน)

3.3 สถานที่ดำเนินงาน

คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมสารสกัดพืช

ตัวอย่างพืชจะถูกนำมาล้างด้วยน้ำกรองจำนวน 2 รอบ แล้วผึ่งตัวอย่างในที่ร่ม อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนมีความชื้นต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ เก็บไว้ในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

การสกัดตัวอย่างพืชทำดังนี้ ชั่งตัวอย่างผงพืช ผสมกับเอทานอล (ความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 10 ปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นนาน 1 นาที แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สกัดซ้ำอีก 1 ครั้ง จากนั้นเทสารสกัดจากพืชรวมกัน แล้วจึงกรองด้วยกระดาษกรอง (Whatman เบอร์ 4) นำสารสกัดพืชใส่ในขวดสีชา เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ $(-18) \pm 1$ องศาเซลเซียส จากนั้นทำให้เข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร หรือ 10,000 พีพีเอ็ม (ppm) ภายใต้สุญญากาศที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาสารสกัดจากพืชเข้มข้นที่อุณหภูมิ -70 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์

3.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน

เตรียมสารละลายพืชแต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม นำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ดังนี้

- ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin - Ciocalteu reagent method ของ Singleton และคณะ (1999)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงใน หลุมไมโครเพลท จากนั้นเติมรีเอเจนต์ Folin Ciocalteu 12.5 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติม สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 10 เปอร์เซ็นต์ 50 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีในที่มืด นำไปวัดค่า

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (microtiter plate reader)

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างไปคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยใช้กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก

- ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay ที่ดัดแปลงมาจาก Brand-Williams และคณะ (1995)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 4 ระดับ ปีเปตสารสกัดปริมาตร 70 ไมโครลิตรลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย DPPH (ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์) 210 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่างไปคำนวณหา % inhibition ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition} = (1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100$$

โดย % inhibition หมายถึง ความสามารถในการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ

A_{control} หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

จากนั้นนำค่า %inhibition เขียนกราฟความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของสารสกัดตัวอย่าง เพื่อหาสมการความสัมพันธ์และจุดตัดแกน Y ที่ 50 จะได้ค่า IC_{50} หมายถึงความเข้มข้นของการทำลายอนุมูล DPPH ลง 50 เปอร์เซ็นต์ (inhibitory concentration, IC_{50})

- Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) โดยวัดความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ ตามวิธีของ Zhou และ Yu (2004)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปีเปตสารสกัดปริมาตร 30 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย $ABTS^{+}$ (ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์) 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ไปคำนวณหาความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

- ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) ของ Benzie และ Strain (1999)

นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปีเปตสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลท แล้วเติมสารละลาย FRAP 300 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 8 นาที นำไปวัด ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตรโดยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท

จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง ไปคำนวณหาความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

- การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assays ดัดแปลงจากวิธีของ Dávalos และคณะ (2004)

นำสารสกัดตัวอย่างเจือจางด้วยน้ำกลั่น ปิเปตสารสกัดปริมาตร 20 ไมโครลิตร ลงในหลุมไมโครเพลทของถาดสีดำกันทึบ แล้วเติมรีเอเจนต์ฟลูออเรสซิน (fluorescein) ความเข้มข้น 10 นาโนโมลาร์ จำนวน 120 ไมโครลิตร ปิดฝา นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบกำหนดเติมสารละลาย AAPH (ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์) 60 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าฟลูออเรสเซนซ์ด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท โดยกำหนดความยาวคลื่นกระตุ้น (excitation) เท่ากับ 485 นาโนเมตร และความยาวคลื่นของการเปล่งแสง (emission) เท่ากับ 535 นาโนเมตร บันทึกค่าการเปล่งแสงทุกๆ 1 นาทีเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ (AUC) ดังสมการ

$$AUC = 1 + f_1/f_0 + f_2/f_0 + f_3/f_0 + f_4/f_0 + \dots + f_i/f_0$$

โดย f_0 หมายถึง ค่าฟลูออเรสเซนซ์เริ่มต้น (นาทีที่ 0)

f_i หมายถึง ค่าฟลูออเรสเซนซ์ที่เวลา i นาที

นำค่า AUC ที่ได้มาหาค่าความแตกต่างของพื้นที่ใต้กราฟระหว่างตัวอย่างกับรีเอเจนต์ (blank) หรือ ค่า net AUC ตามสมการ

$$\text{net AUC} = \text{AUC}_{(\text{sample})} - \text{AUC}_{(\text{blank})}$$

จากนั้นนำค่า net AUC ไปคำนวณหาความสามารถในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของฟลูออเรสซิน โดยใช้กราฟมาตรฐานของสารละลาย Trolox

3.4.3 ผลของสารสกัดจากพืชในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชัน

เตรียมอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ โดยเติมสารสกัดพืช แต่ละชนิดจำนวนทั้งหมด 10 ชนิด ชนิดละ 2 ความเข้มข้น คือ 200 และ 500 พีพีเอ็ม จากนั้นวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) และค่า p-Anisidine (p-AV) โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างอิมัลชันควบคุม (ไม่เติม BHT) และอิมัลชันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม เพื่อคัดเลือกพืชที่เหมาะสมกับอิมัลชันแต่ละประเภทจำนวน 2 ชนิด สำหรับทดสอบในตอนต่อไป

3.4.3.1 การเตรียมอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์

1) การเตรียมน้ำมัน (ดัดแปลงจากวิธีของ Abdalla และคณะ, 1999)

แบ่งน้ำมันถั่วเหลืองออกเป็น 2 ส่วน โดยส่วนที่ 1 หนัก 20 กรัม และส่วนที่ 2 หนัก 90 กรัม

2) การเตรียมน้ำมันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม (ดัดแปลงจากวิธีของ Abdalla และคณะ, 1999)

ชั่ง BHT 1 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร (stock 100,000 พีพีเอ็ม) จากนั้นเปิด stock BHT 0.1 มิลลิลิตร ลงในน้ำมัน(ส่วนที่ 1) 20 กรัม อบที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เมื่อไปเตรียมอิมัลชัน จะได้อิมัลชันเดิม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

3) การเตรียมสารละลายพืช

ชั่งน้ำหนักพืชตามความเข้มข้นที่ต้องการ (200 และ 500 พีพีเอ็ม) เติมน้ำ Tween 20 น้ำหนัก 0.6 กรัมแล้วละลายด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร เทสารละลายพืชผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร กวนผสมด้วย magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 750 rpm นาน 1 นาที เพื่อใช้เป็นส่วนบัฟเฟอร์

ตะกอนพืชส่วนที่เหลือให้นำมาผสมกับ Span 80 น้ำหนัก 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำมัน ส่วนที่ 1 (น้ำหนัก 20 กรัม) ให้เข้ากัน ใช้เป็นน้ำมันส่วนที่ 1 ในการเตรียมอิมัลชัน

4) ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันควบคุม (ดัดแปลงจากวิธีของ Porras และคณะ, 2008)

เตรียมส่วนบัฟเฟอร์ โดยผสมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตรกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ 5 มิลลิลิตร เติมน้ำ Tween 20 น้ำหนัก 0.6 กรัม กวนผสมด้วย magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 750 rpm นาน 1 นาที แล้วเติมน้ำมันส่วนที่ 1 ที่มี Span 80 จำนวน 0.4 กรัมละลายอยู่ลงในส่วนบัฟเฟอร์ช้าๆ ในระหว่างการ เติมน้ำให้กวนผสมที่ความเร็วรอบ 750 rpm เมื่อเติมน้ำมันหมดแล้วให้กวนผสมต่อไป โดยใช้เวลาช่วงแรกทั้งหมด 10 นาที จากนั้นค่อยๆเติมน้ำมันส่วนที่ 2 (น้ำหนัก 70 กรัม) จนหมดและเพิ่มความเร็วในการผสมเป็น 1000 rpm อิมัลชันจะมีสีขาวขุ่นและมีความหนืดเพิ่มขึ้นให้กวนผสมจนครบ 10 นาที จากนั้นลดความเร็วรอบเหลือ 750 rpm และกวนผสมต่อไปอีก 5 นาที รวมระยะเวลาในการเตรียมทั้งหมด 26 นาที

แบ่งอิมัลชันที่ได้ลงขวดเก็บตัวอย่าง ขวดละ 10 กรัม พักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงก่อนนำไปเก็บรักษาในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกๆ 7 วัน เป็นระยะเวลา 56 วัน

การเตรียมอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชและอิมัลชันเดิม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ใช้ขั้นตอนการเตรียมแบบเดียวกับข้อ 2.5 โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชใช้ส่วนบัฟเฟอร์และน้ำมันส่วนที่ 1 ตาม ข้อ 2.4 ส่วนอิมัลชันเดิม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ใช้ น้ำมันเดิม BHT (ข้อ 2.1) แทนน้ำมันส่วนที่ 1

3.4.3.2) อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

เตรียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ น้ำมันส่วนที่ 1 และน้ำมันเดิม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ตาม ข้อ 1.1-1.3

1) การเตรียมสารละลายพืช

ชั่งน้ำหนักพืชตามความเข้มข้นที่ต้องการ (200 และ 500 พีพีเอ็ม) เติมน้ำ Tween 20 น้ำหนัก 0.6 กรัมแล้วละลายด้วยน้ำกลั่น 15 มิลลิลิตร เทสารละลายพืชผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ 15 มิลลิลิตร กวนผสมด้วย magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 750 rpm นาน 1 นาที เพื่อใช้เป็นส่วนบัฟเฟอร์ ตะกอนพืชส่วนที่เหลือให้นำมาผสมกับ Span 80 น้ำหนัก 0.4 กรัม ละลายด้วยน้ำมันส่วนที่ 1 (น้ำหนัก 20 กรัม) ให้เข้ากัน ใช้เป็นน้ำมันส่วนที่ 1 ในการเตรียมอิมัลชัน

2) การเตรียมอิมัลชันควบคุม (ดัดแปลงจากวิธีของ Porras และคณะ, 2008)

เติมน้ำมันส่วนที่ 1 (มี Span 80 น้ำหนัก 0.4 กรัมละลายอยู่) ลงในส่วนบัฟเฟอร์ที่ผสม Tween 20 จำนวน 0.6 กรัม อย่างช้าๆ ในระหว่างการเติมให้กวนผสมด้วย magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 750 rpm เมื่อเติมน้ำมันหมดแล้วให้กวนผสมต่อไป โดยใช้เวลาในช่วงแรก 10 นาที จากนั้นค่อยๆ เติมน้ำมันส่วนที่ 2 (น้ำหนัก 50 กรัม) จนหมด กวนผสมต่ออีก 20 นาที นำอิมัลชันที่ได้ไปโฮโมจีไนซ์ที่ความเร็วรอบ 13,500 rpm เป็นเวลา 5 นาที

แบ่งอิมัลชันลงขวดเก็บตัวอย่าง ขวดละ 10 กรัม พักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงก่อนนำไปเก็บรักษาในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สุ่มเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกๆ 4 วัน เป็นระยะเวลา 32 วัน

การเตรียมอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชและอิมัลชันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชใช้ส่วนบัฟเฟอร์และน้ำมันส่วนที่ 1 ตามข้อ 2.1 ส่วนอิมัลชันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ใช้น้ำมันเติม BHT แทนน้ำมันส่วนที่ 1

3.4.3.3) การวิเคราะห์ทางเคมี

1) การวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS (ดัดแปลงจากวิธีของ McDonald และ Hutin, 1987)

ชั่งตัวอย่างอิมัลชันหนัก 0.1 กรัมในหลอดทดลอง (ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ) เติมน้ำกลั่น 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมรีเอเจนต์ TBARS จำนวน 2 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงกำหนดความเร็วรอบ 5,500 rpm นาน 5 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร คำนวณปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) จากกราฟมาตรฐานของ 1,1,3,3-tetraethoxypropane แสดงค่าในหน่วย มิลลิโมลาร์ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (mM MDA/kg sample)

2) การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV) ตามวิธี Cd 8-53 (AOCS, 2003)

นำตัวอย่างอิมัลชันไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำลายระบบอิมัลชันด้วยการละลายตัวอย่าง แล้วนำไปเหวี่ยงแยกชั้นน้ำมันด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 9,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างน้ำมันที่ได้ไปทำการวิเคราะห์ต่อไป

ชั่งตัวอย่างน้ำมันจำนวน 0.5 กรัมลงในขวดรูปชมพู่ (ตัวอย่างละ 2 ซ้ำ) เติมสารละลายกรดอะซิติกและคลอโรฟอร์ม (อัตราส่วน 3:2) จำนวน 3 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัวจำนวน 50 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 1 นาที จะได้สารละลายสีเหลือง จากนั้นเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำแข็ง 1 เปอร์เซ็นต์จำนวน 100 ไมโครลิตร สารละลายจะเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน นำมาไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไทโอความเข้มข้น 0.01 นอร์มอลจนสารละลายเปลี่ยนเป็นไม่มีสี จดปริมาตรที่ใช้(S)

ทำการไตเตรต blank ตามขั้นตอนข้างต้นโดยไม่ใส่ตัวอย่าง จดปริมาตรที่ใช้(B)
แล้วนำปริมาตรที่ได้มาคำนวณค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ตามสมการ

$$\text{ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV)} = \frac{(S-B) \times N \times 1000}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)}}$$

โดย B คือ มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรต blank

S คือ มิลลิลิตรของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง

N คือ ความเข้มข้น(นอร์มอล)ของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต

3) การวิเคราะห์ค่า p-Anisidine (p-Anisidine Value, p-AV) ตามวิธี Cd 18-60 (AOCS, 1997)

ชั่งตัวอย่างน้ำมันตามข้อ 4.2.1 น้หนัก 0.1 กรัม ละลายด้วยไอโซออกเทนปรับปริมาตรเป็น 5 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายดังกล่าว 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง (ตัวอย่างละ 2 ข้าง) เติมรีเอเจนต์ p-Anisidine 0.2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดนาน 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 350 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณค่า p-Anisidine ตามสมการ

$$\text{p-AV} = \frac{5 \times (1.2A_s - A_b)}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)}}$$

โดย A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่เติมรีเอเจนต์ p-Anisidine

A_b คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง

4) วิเคราะห์ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V)

คำนวณปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดตามสมการ

$$\text{Totox V} = 2 \text{ PV} + \text{p-AV}$$

การคัดเลือกสารสกัดพืช พิจารณาจากสารสกัดพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งการออกซิเดชันสูงสุด 2 ลำดับแรกในทุกวิธีทดสอบ โดยเลือกสารสกัดพืช 2 ชนิดในแต่ละความเข้มข้นของอิมัลชันแต่ละประเภท จากนั้นนำไปทดสอบในตอนี่ 2 ต่อไป

3.4.4 ผลของพีเอช และอุณหภูมิต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันของสารสกัดพืชที่คัดเลือก

นำสารสกัดพืชที่คัดเลือกมาเติมในอิมัลชัน(มีสัดส่วนน้ำมัน 70 และ 90 เปอร์เซ็นต์)ที่เตรียมในชั้นในสถานะแตกต่างกัน คือ พีเอช = 3, 5.4 และ 7 แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส วิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS ค่าเปอร์ออกไซด์(PV) และค่า p-Anisidine(p-AV) โดยเปรียบเทียบตัวอย่างอิมัลชันควบคุม (ไม่เติม BHT) และอิมัลชันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

3.4.4.1 การเตรียมอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์

1) การเตรียมฟอสเฟตบัพเฟอร์ 0.05 โมลาร์ (พีเอช = 3, 5.4 และ 7)

เตรียมฟอสเฟตบัพเฟอร์ 0.1 โมลาร์ (พีเอช = 5.4) ตามข้อ 2.1 ส่วนฟอสเฟตบัพเฟอร์ พีเอช=3 เตรียมโดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 10 นอร์มอล และฟอสเฟตบัพเฟอร์ พีเอช=7 ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 50 เปอร์เซ็นต์ เติมลงในบัพเฟอร์เพื่อปรับพีเอชให้มีค่าตามที่กำหนดไว้ จากนั้นเติมโซเดียมเอไซด์ (0.2 กรัม) แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 500 มิลลิลิตร ฟอสเฟตบัพเฟอร์ทั้ง 3 ชนิดที่เตรียมขึ้นนี้ มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ จึงต้องเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 ในขั้นตอนการเตรียมอิมัลชัน

2) ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชัน

การเตรียมอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ มีรายละเอียดตามข้อ 2.5 และ 3.2 ตามลำดับ โดยเปลี่ยนฟอสเฟตบัพเฟอร์ให้มีพีเอชตามที่กำหนด แล้วนำไปเก็บในที่มืด ควบคุมอุณหภูมิที่ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส โดยสุ่มเก็บตัวอย่างตามความเหมาะสมของแต่ละอุณหภูมิ

3) การวิเคราะห์ทางเคมี

ทำการวิเคราะห์ทางเคมีตามรายละเอียดที่แสดงไว้ในข้อ 4.1-4.3 และคำนวณหา Q_{10} และ ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ตามสมการ

$$Q_{10} = \frac{\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิเพิ่มขึ้น 10 องศาเซลเซียส (T+10°C)}}{\text{อัตราการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิที่กำหนด (T°C)}}$$

$$t_{1/2} = \frac{0.693}{k}$$

โดย k หมายถึง ค่าคงที่ของอัตราการเกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิที่กำหนด

3.4.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ค่าที่วิเคราะห์ได้แสดงเป็นค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน จากการทดลองอย่างน้อย 2 ซ้ำ นำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อหาความแตกต่างของความสามารถของพืชแต่ละชนิด ด้วยวิธี one-way ANOVA procedure ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ ทำการวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของผลการทดลองด้วยวิธี Duncan's multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ ของสารสกัดพืช

สารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิดนำมาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ 4 วิธี คือ วิธี DPPH คำนวนในค่า IC₅₀ (พีพีเอ็ม) และ วิธี TEAC FRAP และ ORAC คำนวนโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (ไมโครกรัม หรือมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืช

	TPC*	IC ₅₀	TEAC*	FRAP*	ORAC**
	(µg GAE/ml)	(ppm)	(µg TE/ml)	(µg TE/ml)	(mg TE/ml)
ตะไคร้ต้น	14.87±0.26 ^b	1,558±21 ^g	14.42±0.18 ^a	8.687±0.030 ^a	0.840±0.020 ^{cd}
ส้มกุ่ม	15.56±0.05 ^b	392±14 ^f	24.82±0.18 ^{bc}	6.047±0.385 ^a	0.779±0.086 ^{cd}
ผักสมุย	11.18±1.06 ^a	278±1 ^e	20.03±0.35 ^{ab}	13.58±0.16 ^b	0.676±0.107 ^d
ผักฮ้านน้ำ	19.91±1.15 ^c	133±8 ^c	39.58±0.54 ^e	26.70±0.33 ^c	1.920±0.125 ^{ab}
ตี่วเกลี้ยง	23.05±0.94 ^d	158±3 ^d	30.14±1.54	32.10±1.48 ^d	0.760±0.035 ^{cd}
ราชวดีป่า	18.67±0.17 ^c	158±12 ^d	22.97±0.21 ^b	30.98±4.47 ^d	1.929±0.109 ^{ab}
ผักไผ่	32.10±0.58 ^f	88.4±1.8 ^b	126.2±6.2 ^g	46.64±3.66 ^f	2.041±0.108 ^a
หมีเหม็น	42.94±0.57 ^h	48.4±0.4 ^a	122.1±2.3 ^f	57.23±1.58 ^g	2.077±0.025 ^a
หญ้าเอ็นเลื้อย	28.85±1.77 ^e	40.0±1.5 ^a	38.08±0.82 ^d	40.37±1.99 ^e	1.810±0.104 ^b
ทะโล้	38.60±0.64 ^g	38.2±0.3 ^a	141.4±5.1 ^h	54.40±0.88 ^g	0.943±0.030 ^c

หมายเหตุ * , ** หมายถึง สารสกัดพืชมีความเข้มข้นเท่ากับ 100 และ 500 พีพีเอ็ม (ppm) ตามลำดับ

ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวคอลัมน์ แสดงถึง ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ (p<0.05)

TPC หมายถึง ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแสดงค่าในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร

IC₅₀ หมายถึง ความเข้มข้น(ในหน่วยพีพีเอ็ม)ของสารสกัดพืชที่ใช้ทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ลง 50 เปอร์เซนต์

TEAC หมายถึง ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ แสดงค่าในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของ Trolox ต่อ มิลลิลิตร

FRAP หมายถึง ความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมด แสดงค่าในหน่วยไมโครกรัมสมมูลของ Trolox ต่อ มิลลิลิตร

ORAC หมายถึง ความสามารถในการชะลอการออกซิเดชันของฟลูออเรสซินของตัวอย่าง หน่วยมิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ต่อ มิลลิลิตร

สารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม จำนวน 10 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 11.18-42.38 มิลลิกรัม (สมมูลย์ของกรดแกลลิก) ต่อมิลลิลิตร โดยพบสารสกัดพืช 3 ชนิดที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า 30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ได้แก่ ผักไผ่ (32.1) ทะโล้ (38.6) และหมีเหม็น (42.94) ส่วนสารสกัดพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด คือ ผักสมุย (11.18)

สารสกัดพืชแต่ละชนิดมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ด้วยกลไกการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมแตกต่างกัน และมีค่า IC_{50} ตั้งแต่ 38.2-1,558 พีพีเอ็ม โดยสารสกัดพืชที่มีค่า IC_{50} ต่ำแสดงว่ามีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่ดี ซึ่งผลการวิเคราะห์นี้จะให้ผลตรงข้ามกับวิธีทดสอบอื่นๆ จากผลการทดลองพบสารสกัดพืช 3 ชนิดที่มีค่า IC_{50} ต่ำกว่า 50 พีพีเอ็ม ได้แก่ ทะโล้ (38.2) ญ่าเอ็นเสื่อ (40) และหมีเหม็น (48.4) ส่วนสารสกัดตะไคร้ต้นมีค่า IC_{50} สูงที่สุด (1,558) หรือมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีนี้ต่ำที่สุด สำหรับความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ABTS⁺ หรือวิธี TEAC พบว่าสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มจำนวน 3 ชนิดได้แก่ สารสกัดทะโล้ ผักไผ่ และ หมีเหม็น มีค่าสูงเป็นลำดับที่ 1- 3 อันดับแรก โดยมีค่า TEAC เท่ากับ 141.4, 126.2 และ 121.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดตะไคร้ต้นมีค่า TEAC ต่ำที่สุด คือมีค่าเท่ากับ 14.42 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับ ผลการทดลองความสามารถในการรีดิวซ์ทั้งหมดด้วยวิธี FRAP พบว่า สารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิดมีค่า FRAP อยู่ระหว่าง 6.047-57.23 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหมีเหม็น ทะโล้ และผักไผ่มีค่า FRAP สูงกว่าสารสกัดพืชอื่นๆ ส่วนสารสกัดส้มกุ่มพบว่า มีค่า FRAP ต่ำที่สุด คือ 6.048 มิลลิกรัมสมมูลย์ สำหรับวิธี ORAC ใช้สารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม พบว่ามีค่า ORAC อยู่ระหว่าง 0.676-2.077 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยสารสกัดหมีเหม็น ผักไผ่ ผักย่านน้ำ และ ราชวดีปามีค่า ORAC สูงที่สุดและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$)

จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดพืชมีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยกลไกที่แตกต่างกัน เนื่องจาก วิธี DPPH และ TEAC นั้น แม้ว่าจะทดสอบการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH[•] และ ABTS^{•+} ตามลำดับ แต่กลไกการทำลายอนุมูลอิสระทั้งสองมีความแตกต่างกัน โดยวิธี DPPH จะทดสอบความสามารถในการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม ส่วน วิธี TEAC นั้นจะทดสอบความสามารถในการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอน จากผลการทดลองพบว่า สารสกัดทะโล้และหมีเหม็นนั้นมีค่า IC_{50} ต่ำ แต่มีค่า TEAC สูง แสดงว่า สารพฤษเคมีในพืชทั้ง 2 ชนิดนี้ สามารถทำลายอนุมูลอิสระทั้งสองชนิดผ่านกลไกทั้งสองแบบได้ดี ส่วนสารสกัดตะไคร้ต้นมีค่า IC_{50} สูงและมีค่า TEAC ต่ำที่สุด แสดงว่า สารพฤษเคมีของตะไคร้ต้นมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระผ่านกลไกทั้ง 2 ได้ไม่ดี สำหรับสารสกัดผักไผ่ มีค่า IC_{50} ปานกลางและมีค่า TEAC สูง แสดงว่าสารพฤษเคมีของผักไผ่มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระผ่านกลไกการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนได้ดีกว่าการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอม

แม้ว่าวิธี TEAC และ FRAP จะใช้กลไกการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนเหมือนกัน แต่มีความจำเพาะต่อการทำปฏิกิริยาแตกต่างกัน ค่าที่วิเคราะห์ได้ในแต่ละวิธีจึงมีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามค่า TEAC และค่า FRAP มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ หากสารสกัดพืชมีค่า TEAC สูง ก็มีแนวโน้มว่าจะมีค่า FRAP สูงเช่นกัน แสดงว่า สารพฤษเคมีอาจเป็นกลุ่มเดียวกันที่มีความสามารถในการเคลื่อนย้าย สำหรับ การวิเคราะห์ด้วยวิธี ORAC เป็นการทดสอบความสามารถของสารต้านออกซิเดชันในการชะลอการเกิดอนุมูล AAPH[•] โดยใช้กลไกการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมเป็นกลไกหลักในการทำปฏิกิริยา วิธีการนี้จึงมีความ

แตกต่างจากวิธีทดสอบอื่นๆ เป็นอย่างมาก ทำให้พบว่า สารสกัดพืชที่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธีอื่นๆ อยู่ในระดับปานกลาง มีค่า ORAC สูง เช่น ผักฮั่นน้ำ ราชวดีป่า และหญ้าเอ็นเสื่อ โดยมีค่า ORAC สูงกว่า 1.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิกรัม ซึ่งสารสกัดพืชที่มีค่า ORAC สูงที่สุดได้แก่ สารสกัดหมีเหม็นและผักไผ่ (มีค่า 2.077 และ 2.041 มิลลิกรัมสมมูลของ Trolox ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดที่มีค่า ORAC ต่ำที่สุด คือ ผักสมุย

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันไปตามกลไกที่ใช้ในการทำปฏิกิริยา การบ่งชี้ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จึงไม่สามารถใช้วิธีวิเคราะห์วิธีใดวิธีหนึ่งในการบ่งชี้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันทั้งหมดได้ ดังนั้น พืชแต่ละชนิดจึงมีความเหมาะสมต่อวิธีวิเคราะห์ที่มีกลไกแตกต่างกันนอกเหนือไปจาก ความแตกต่างของชนิดและองค์ประกอบของพืช

เมื่อพิจารณาความสอดคล้องระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านออกซิเดชันทุกวิธี พบว่า สารสกัดพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกสูง เช่น ทะโล้ หมีเหม็นและผักไผ่ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดีในทุกวิธีทดสอบ จึงมีความเป็นไปได้ว่า สารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช มีบทบาทสำคัญในการต้านออกซิเดชันดังที่พบรายงานในพืชหลายชนิด อย่างไรก็ตาม ค่าที่วิเคราะห์ได้ในทุกวิธีทดสอบมีความแตกต่างจากผลการวิเคราะห์สารสกัดพืชแห่งที่เคยทำมาก่อน อาจเนื่องมาจากปัจจัยหลัก 2 ประการ คือ ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเพาะปลูกพืชตัวอย่าง ทั้งอายุ ฤดูกาลสภาพดิน และสภาพอากาศ เป็นต้น รวมทั้งปัจจัยที่เกิดจากการสูญเสียสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านออกซิเดชันในระหว่างการอบแห้งและการทำให้เข้มข้น ซึ่งจะทำลายสารในกลุ่มที่ไม่ทนความร้อนหลายชนิด ดังรายงานของ Katsube และ คณะ (2009) ที่พบการสูญเสีย quercetrin 3-(6-malonylglucoside) ไอโซเคอร์ซิติน (isoquercitrin) รุทีน และ กรดคลอโรจีนิก และสารอื่นๆ อีกหลายชนิดภายหลังการทำแห้งใบหม่อน รวมทั้งยังก่อให้เกิดการเปลี่ยนโครงสร้างเป็นสารที่ไม่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน หรือมีความไวต่อการทำปฏิกิริยาลดลงได้อีกด้วย (Cai และ คณะ, 2006; Roy และ คณะ, 2007) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ทะโล้ หมีเหม็นและผักไผ่เป็นพืชที่มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงและมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดี มีแนวโน้มที่สามารถนำไปใช้ในด้านต่างๆต่อไปได้

4.2 ผลของการใช้สารสกัดจากพืชในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ และ 70 เปอร์เซ็นต์

สารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิด ถูกเติมลงในอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมัน (water-in-oil, W/O) ที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ที่เตรียมขึ้นจากฟอสเฟตบัพเฟอร์ (พีเอช 5.4) ผสมกับน้ำมันถั่วเหลือง โดยกำหนดความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ 200 และ 500 พีพีเอ็ม ตัวอย่างอิมัลชันเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 56 และ 32 วัน ตามลำดับ มาวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS หาค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ค่า p-Anisidine (p-AV) และปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V) โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างอิมัลชันควบคุมและอิมัลชันเติม BHT ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

ตัวอย่าง*	ppm	ระยะเวลาเก็บรักษา(วัน)								
		0	7	14	21	28	35	42	49	56
Control		-	-	-	-	-	-	-	-	-
BHT	100	-	-	-	-	-	-	-	-	-
HN	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
SM	200	-	-	-	-	-	-	-	-	O
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	O
PP	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
TA	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	O
YE	200	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	500	-	-	-	-	-	-	-	-	O

หมายเหตุ * หมายถึง สารสกัดพืช 10 ชนิด ได้แก่ R=ราชวดีป่า, TK=ตี่วเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมี่เหม็น, TT=ตะไคร้ตัน, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะโล้, YE=หญ้าเอ็นเสือ

- หมายถึง ไม่พบการเสียสภาพ

F หมายถึง การเสียสภาพแบบ flocculation

C หมายถึง การเสียสภาพแบบ coalescence

O หมายถึง การเสียสภาพแบบ oiling off

S หมายถึง การเสียสภาพแบบเกิดการแยกชั้นของน้ำมัน (oil separation)

จากตารางที่ 4.2 พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีการเสียสภาพแบบ oiling off มากที่สุด โดยพบชั้นน้ำมันลอยอยู่บนผิวหน้าของตัวอย่างอิมัลชันเมื่อเก็บรักษานาน 56 วัน ซึ่งการเสียสภาพแบบ oiling off นี้ จะเกิดต่อเนื่องมาจากการเสียสภาพแบบ coalescence ที่มีสาเหตุจากการรวมตัวของหยดน้ำมัน โดยในระหว่างการเก็บรักษา หยดน้ำมันมีการเคลื่อนที่เข้าใกล้กันแล้วเกิดรวมตัวกันเป็นหยดขนาดใหญ่หรือชั้นฟิล์มน้ำมันแยกตัวออกมา ซึ่งการรวมตัวแบบ coalescence นี้ส่งผลให้ พื้นที่ผิวของหยดน้ำมันที่จับกับสารอิมัลซิไฟเออร์มีค่าลดลง จึงกลับมารวมตัวกันเองด้วยแรงดึงดูดระหว่างหยดน้ำมัน (droplet-droplet interaction potential) นอกจากนี้ ความแข็งแรงของชั้นฟิล์มระหว่างสารอิมัลซิไฟเออร์กับเฟสทั้งสอง ก็เป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่ออัตราเร็วของการเสียสภาพแบบนี้ด้วยเช่นกัน (Dickinson, 1992; McClements, 2002)

ส่วนการเสียสภาพแบบ flocculation นั้น เกิดจากการเคลื่อนที่เข้าใกล้กันของหยดน้ำมัน และคงสภาพอยู่ในลักษณะนี้ โดยไม่มีการรวมตัวกันเป็นหยดน้ำมันขนาดใหญ่เหมือนกับการณ์ของ coalescence (McClements, 2002) และตามรายงานของ Sjöblom (1996) ยังพบว่า อิมัลชันที่มีการเสียสภาพแบบนี้สามารถผันกลับได้เมื่อนำไปผสมโดยใช้แรงเฉือนต่ำ (low shear forces) อย่างไรก็ดี การเกิด flocculation สามารถเร่งให้เกิดการเสียสภาพแบบ creaming ได้เร็วขึ้น รวมทั้งยังส่งผลต่อความหนืดของอิมัลชันด้วยเช่นกัน (Serra และ Casamitjana, 1998) จึงเห็นได้ว่า การเสียสภาพของอิมัลชัน ไม่เพียงส่งผลต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ แต่ยังรวมไปถึงการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพบางประการอีกด้วย

เมื่อพิจารณาความคงตัวของอิมัลชันเดิมพีชทั้ง 10 ชนิด พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดตัวเกลี้ยงทั้ง 2 ความเข้มข้นมีความคงตัวต่ำที่สุด โดยการเติมสารสกัดตัวเกลี้ยงที่ความเข้มข้นสูง (500 พีพีเอ็ม) อิมัลชันมีความคงตัวต่ำกว่าการเติมสารสกัดที่ความเข้มข้นต่ำหรือ 200 พีพีเอ็ม อีกทั้งยังพบการเสียสภาพแบบ flocculation และ coalescence เมื่อเก็บรักษาได้เพียง 21 และ 35 วัน ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อครบ 56 วัน อิมัลชันที่เติมสารสกัดตัวเกลี้ยง 500 พีพีเอ็ม เกิดการแยกชั้นของน้ำมันหรือเกิดการเสียสภาพอิมัลชันอย่างสมบูรณ์ ส่วนการเติมสารสกัดตัวเกลี้ยง 200 พีพีเอ็มนั้น พบการเสียสภาพตั้งแต่วันที่ 49 ในขณะที่การใช้สารสกัดพีชอื่นๆ พบการเสียสภาพในวันที่ 56 แสดงให้เห็นว่า ระบบอิมัลชันที่เติมสารสกัดตัวเกลี้ยงมีความสมดุลต่ำกว่าพีชชนิดอื่นๆ อาจเนื่องมาจาก องค์ประกอบที่พบในตัวเกลี้ยงเอง หรือชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ที่ใช้ไม่มีความเหมาะสมต่อสารสกัดชนิดนี้ รวมไปถึง การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในระดับโมเลกุล เช่น การเกิดการออกซิเดชัน และ ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส เป็นต้น ซึ่งล้วนแต่เป็นปัจจัยสำคัญที่เร่งให้เกิดการเสียสภาพของอิมัลชัน (McClements, 2009) ดังนั้น สารสกัดตัวเกลี้ยงจึงไม่เหมาะที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านการหืนในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่เตรียมได้มีความคงตัวต่ำ

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

ส่วนอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ที่เตรียมขึ้นมีสีขาวขุ่น มีความหนืดเพิ่มขึ้น แต่ยังมีลักษณะเป็นของเหลว โดยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษานาน 32 วัน อิมัลชันทดสอบทุกชนิดไม่พบการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ ทั้งด้านความคงตัวของผลิตภัณฑ์และสีของผลิตภัณฑ์ กล่าวคือ ไม่พบการเสียสภาพทั้ง 4 แบบ คือ oiling off, flocculation, coalescence และการแยกชั้นของน้ำมัน (oil separation) รวมทั้งการเติมสารสกัดพีชทั้งสองระดับความเข้มข้น (200 และ 500 พีพีเอ็ม) ก็ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสีของผลิตภัณฑ์ในพีชทั้งสองกลุ่ม คือ พีชที่มีสีเขียว ได้แก่ ตะไคร้ต้น ผักสมุยและหญ้าเอ็นเสื่อ และพีชที่มีสีเหลือง ได้แก่ ราชวาทิปา ตัวเกลี้ยง ส้มกุ่ม หนิเหม็น ผักฮ้านน้ำ ผักไผ่ และทะเล

ปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญต่อความคงตัวของอิมัลชันชนิดนี้ตลอดการเก็บรักษา 32 วัน ได้แก่ การลดขนาดหยดนํ้ามันในระบบอิมัลชันในขั้นตอนโฮโมจีไนเซชัน เนื่องจาก เฟสนํ้ามันและเฟสนํ้ามีแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค (droplet-droplet interaction) เฉพาะตัว ส่งผลให้อนุภาคในแต่ละเฟสมีแนวโน้มรวมตัวกันเองมากกว่าที่จะกระจายตัวในระบบอิมัลชัน ทำให้อิมัลชันเสียสภาพ แต่การโฮโมจีไนเซชันส่งผลโดยตรงต่อการลดขนาดอนุภาคของเฟสทั้งสองลง โดยเฉพาะอย่างยิ่งการลดขนาดของหยดนํ้ามันทำให้สามารถจับตัวกับสารอิมัลซิไฟเออร์และเฟสนํ้าได้มากขึ้น ความคงตัวของระบบจึงเพิ่มมากขึ้นไปด้วย โดยขนาดของอนุภาคนํ้ามันที่ทำให้ระบบอิมัลชันมีความคงตัวอยู่ในช่วงไม่เกิน 1 ไมโครเมตร (Decker และคณะ, 2005) อีกทั้งยังพบว่า ความเร็วรอบ (rpm) และระยะเวลาในการโฮโมจีไนซ์ตัวอย่าง มีความเกี่ยวข้องกับความคงตัวของระบบอิมัลชันอีกด้วย โดยในการศึกษาครั้งนี้พบว่า การโฮโมจีไนซ์ตัวอย่างอิมัลชันที่ความเร็วรอบ 13,500 rpm เป็นเวลานาน 5 นาที จึงจะเพียงพอต่อการรักษาระบบอิมัลชันดังกล่าวให้มีความคงตัวตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาที่ 32 วัน นอกจากนี้ การโฮโมจีไนซ์ตัวอย่างยังมีส่วนช่วยด้านสีของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากอนุภาคของระบบมีขนาดเล็กลง จึงสามารถสะท้อนแสงได้มากขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความสว่างมากขึ้นตามไปด้วย จึงไม่เห็นความแตกต่างระหว่างอิมัลชันควบคุมกับอิมัลชันที่เติมสารสกัดพีช

ถึงแม้ว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิดไม่มีการเสีสภาพตลอด 32 วัน แต่ช่วงท้ายของการทดสอบ อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชบางชนิด เช่น หมี่เหม็น ผักฮั่นน้ำ ตัวเกลี้ยง สังเกตเห็นการรวมตัวกันเป็นชั้นครีมที่จะนำไปสู่การแยกชั้น หรือการเสีสภาพแบบ creaming ได้ เมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาให้นานขึ้น ในขณะที่อิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิดไม่พบลักษณะดังกล่าว แสดงให้เห็นว่า การเติมสารสกัดพืชมีผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันแตกต่างกันไปตามชนิดและองค์ประกอบที่พบในพืช

• การเปลี่ยนแปลงสี

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์

การเปลี่ยนแปลงของสีอิมัลชันในระหว่างการเก็บรักษา ของกลุ่มอิมัลชันที่มีสีเขียว สามารถตรวจสอบได้ด้วยตาเปล่า โดยอิมัลชันเปลี่ยนจากสีเขียวอ่อนๆ เป็นสีเหลืองคล้ำ หรือสีน้ำตาลคล้ำ (olive brown) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการสลายตัวของรงควัตถุคลอโรฟิลล์ผ่านวิถีทั้งสองวิถี คือ Type I และ Type II (Toivonen และ Brummell, 2008) โดยการสลายตัวของคลอโรฟิลล์แบบ Type I นั้น คลอโรฟิลล์ เอ (chlorophyll a) ซึ่งให้สีเขียวแก่มน้ำเงิน สลายตัวเป็นฟีโอไฟติน เอ (pheophytin a) และสลายต่อเป็นฟีโอพอร์ไบด์ เอ (pheophorbide a) ซึ่งสารทั้งสองมีสีน้ำตาลคล้ำ (Matile, 1999) แต่การสลายตัวผ่านวิถี Type II นั้น เกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างคลอโรฟิลล์กับอนุมูลอิสระที่เกิดจากการออกซิเดชัน เช่น อนุมูลเปอร์ออกไซด์ หรืออนุมูลฟีนอกซิล (phenoxyl radicals) รวมถึงอนุมูลอื่นๆ การสลายตัวของคลอโรฟิลล์ผ่านวิถีทั้งสองนี้ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีเปลี่ยนไปในที่สุด (Toivonen และ Brummell, 2008) สำหรับกลุ่มอิมัลชันที่มีสีเหลืองพบว่า มีสีซีดจางลงเล็กน้อย คาร์โรทีนอยด์เป็นรงควัตถุกลุ่มที่ให้สีเหลืองและพบได้มากในพืชเกือบทุกชนิด สามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว และคาร์โรทีนอยด์ที่ละลายในน้ำมันมีอัตราการสลายตัวที่ต่ำมาก (Tsimidou และ Biliaderis, 1997) ในการทดลองครั้งนี้ พืชหลายชนิด เช่น ผักสมุย ตัวเกลี้ยง ทะโล้ หมี่เหม็น และหญ้าเอ็นเสื่อ มีรายงานการตรวจพบเทอร์ปีนซึ่งสารประกอบในกลุ่มคาร์โรทีนอยด์ ด้วยเทคนิคเทคนิคทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin layer chromatography (นราพร พรหมไกรวร, 2552) สอดคล้องสีเหลืองของอิมัลชันเดิมตัวเกลี้ยง ทะโล้ และหมี่เหม็น อย่างไรก็ตาม เมื่อครบ 56 วัน พบการซีดจางลงของสีเหลืองเพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่า คาร์โรทีนอยด์มีความคงตัวมากกว่าคลอโรฟิลล์ ซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวของรงควัตถุชนิดนี้

การเติมสารสกัดพืชลงในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่สำคัญด้านกายภาพ คือ สีและความคงตัวของผลิตภัณฑ์ การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 56 วัน ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ใช้เป็นสำคัญ โดยการเติมสารสกัดส้มกุ่ม หมี่เหม็น ผักฮั่นน้ำ และ ผักไผ่ ที่ความเข้มข้นทั้ง 2 ระดับ ไม่มีผลต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์และการเปลี่ยนแปลงสี ส่วนการเติมสารสกัดตัวเกลี้ยงทุกระดับความเข้มข้น ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวต่ำที่สุด

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

อิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ที่เติมสารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้นต่ำและสูง สังเกตไม่พบการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ ทั้งทางด้านความคงตัวและสีของผลิตภัณฑ์ตลอดอายุการเก็บรักษา 32 วันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมี

- ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV)

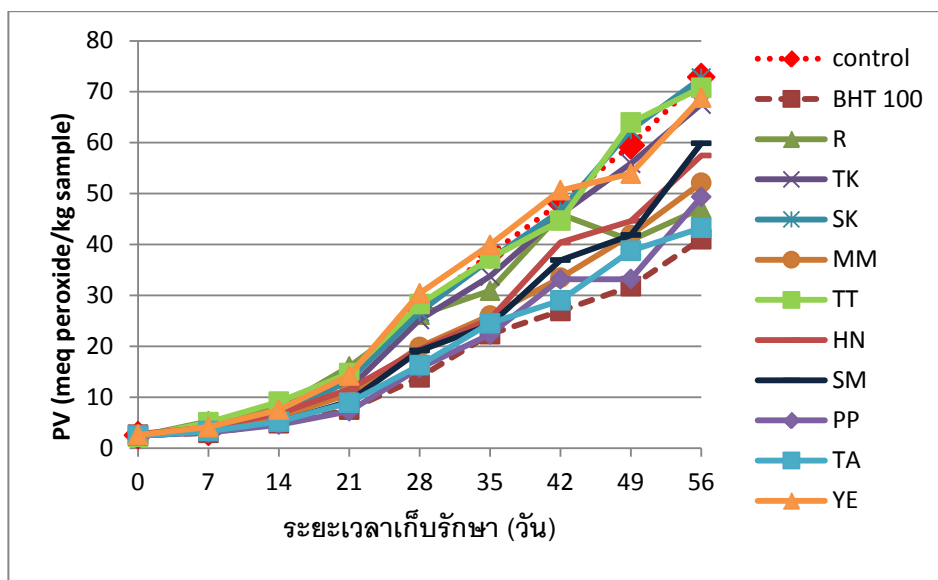
การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) เป็นการวัดปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิ (primary oxidation products) ที่ได้จากการออกซิเดชันของไขมัน และวิธีที่ได้รับความนิยมมากที่สุดวิธีหนึ่ง คือ iodometric assay โดยอาศัยการเกิดปฏิกิริยาระหว่างไฮโดรเปอร์ออกไซด์กับไอโอไดด์ไอออน (iodide ion) ได้เป็นไอโอดีน จากนั้นไตเตรตหาปริมาณไอโอดีนที่เกิดขึ้น (Laguerre และ คณะ, 2007) ค่าเปอร์ออกไซด์ที่วิเคราะห์ได้ แสดงในรูป milliequivalent (meq) peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

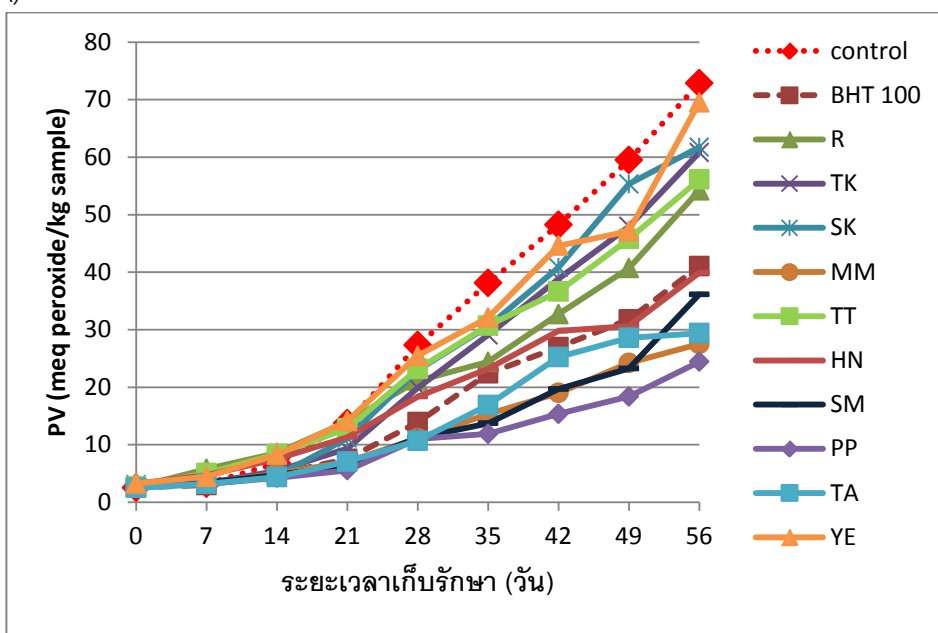
ค่า PV ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ ที่เติมสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็ม (ภาพที่ 4.1) ผลการทดลองแสดงว่า ตัวอย่างควบคุมทั้งสองชนิด (ไม่เติม BHT และเติม BHT 100 พีพีเอ็ม) มีค่า PV เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยตัวอย่างควบคุมมีค่า PV ในแต่ละวันของการเก็บรักษา โดยมีค่าเริ่มต้น (วันที่ 0) และค่าสุดท้าย (วันที่ 56) สูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ คือ 2.5 และ 72.8 meq peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ การเติม BHT ส่งผลให้ปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ลดลง และมีค่า PV ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม โดยมีค่าสุดท้ายเท่ากับ 41 meq peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง แสดงว่า BHT สามารถยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในระหว่างการเก็บรักษาได้

ถึงแม้ว่า ค่า PV ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทุกชนิดที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม มีค่าน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม แต่มีค่าที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าในอิมัลชันที่เติม BHT โดยมีความแตกต่างระหว่างตัวอย่างทั้งหมดอย่างชัดเจนตั้งแต่การเก็บรักษาในวันที่ 28 เป็นต้นไป (ภาพที่ 4.1A) แสดงว่า สารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิดนี้ มีฤทธิ์ในการยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ใกล้เคียงกันในช่วงวันที่ 0-21 วันของการเก็บรักษา แต่เมื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาจาก 21 เป็น 56 วัน พบว่า การใช้สารสกัดพืชที่ความเข้มข้นนี้ มีประสิทธิภาพต่ำกว่าการใช้ BHT (100 พีพีเอ็ม) อย่างไรก็ตาม อิมัลชันที่เติมสารสกัดตะไคร้ต้น หญ้าเอ็นเสื่อ และตัวเกลี้ยง มีค่า PV ใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุมตลอดอายุการเก็บรักษา โดยมีค่าสุดท้ายเท่ากับ 70.8, 68.8 และ 67.5 meq peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ แสดงว่า สารสกัดพืชแต่ละชนิดมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันต่างกัน ทั้งที่เกิดจากปัจจัยด้านการสกัดที่มีผลต่อสารออกฤทธิ์ของสารต้านออกซิเดชันที่พบในพืช รวมถึง ความเหมาะสมต่อระบบอิมัลชัน

การเติมสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ดังภาพที่ 4.1B โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทุกชนิดมีค่า PV ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดผักไผ่ หมี่หมื่น และทะเล่ ส่งผลให้ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นอย่างชัดเจน โดยมีค่า PV ตลอดอายุการเก็บรักษาต่ำกว่าอิมัลชันที่เติม BHT 100 พีพีเอ็ม ประมาณ 1.6 เท่า นอกจากนี้ การเติมสารสกัดผักฮั่นน้ำที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพเทียบเท่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม การเพิ่มปริมาณของสารสกัดพืชนั้นส่งผลโดยตรงต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่เป็นองค์ประกอบ จึงทำให้ประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย สอดคล้องกับ Mattia และ คณะ (2009) ที่พบว่า สารประกอบฟีนอลิกมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันดีขึ้น เมื่อความเข้มข้นจาก 250 เป็น 500 ไมโครโมลาร์



(A)



(B)

ภาพที่ 4.1 ค่าเปอร์ออกไซด์ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ต้วเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮั่นน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะโล้, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

เมื่อพิจารณาความสามารถในการยับยั้งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิของสารสกัดพืชทั้งหมด พบว่า การใช้สารสกัดผักไผ่ หมีเหม็น และ ทะโล้เข้มข้น 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการต้านการหืน คือ ชนิดของพืชและความเข้มข้นที่เลือกใช้

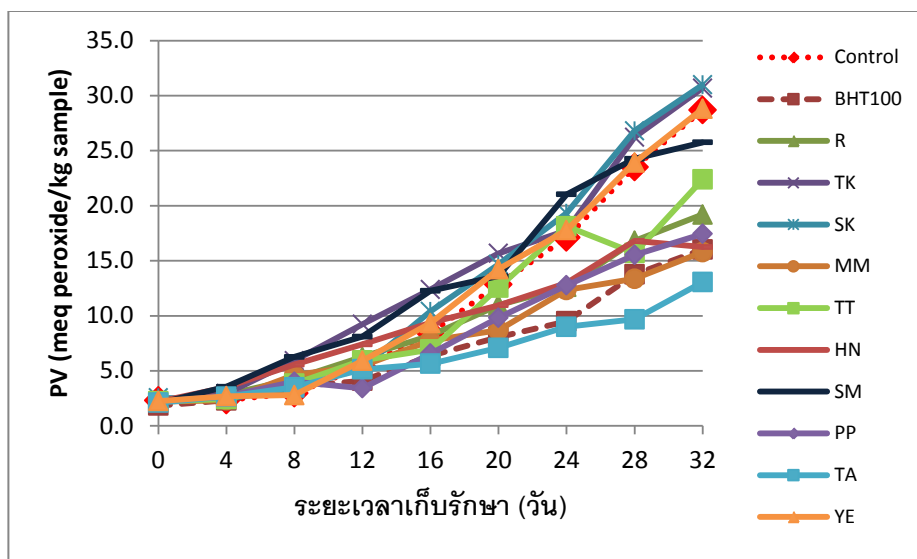
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของค่า PV ตลอดอายุการเก็บรักษาเช่นเดียวกับอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ โดยอิมัลชันควบคุมมีค่า PV สูงกว่าอิมัลชันเติม BHT 100 พีพีเอ็ม และมีค่า PV ต่ำกว่าอิมัลชันควบคุมประมาณ 2 เท่า แสดงว่า การเติม BHT ที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็มนั้น มีประสิทธิภาพที่ดีในการชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอิมัลชันทดสอบ (ภาพที่ 4.2)

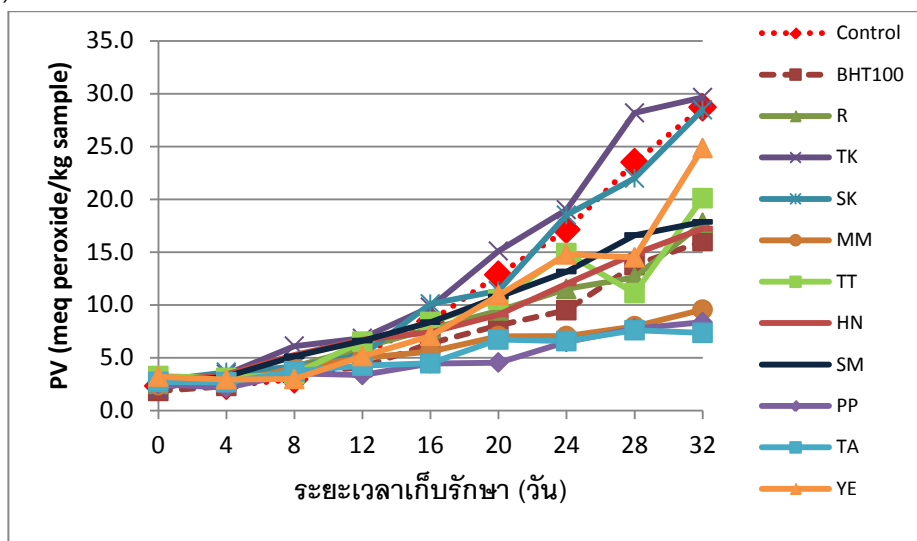
การเติมสารสกัดพืชแต่ละชนิดส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่า PV ที่แตกต่างกันในแต่ละระดับความเข้มข้น โดยการเติมสารสกัดพืช 200 พีพีเอ็ม มีฤทธิ์ยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันได้ ยกเว้นการเติมสารสกัดพืช 4 ชนิด ได้แก่ ตัวเกลี้ยง ส้มกุ่ม หล้าเอ็นเสือ และผักสมุย ที่มีค่า PV ใกล้เคียงหรือมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุม (ภาพที่ 4.2A) อย่างไรก็ตามพบว่า การเติมสารสกัดทะโล้ 200 พีพีเอ็มในอิมัลชัน มีประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยสามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน และมีประสิทธิภาพดีกว่าอิมัลชันที่เติม BHT 100 พีพีเอ็มตลอดอายุการเก็บรักษา ส่วนการเติมสารสกัดหมีเหม็นก็มีประสิทธิภาพเทียบเท่ากับ BHT 100 พีพีเอ็ม ดังนั้น การเติมสารสกัดพืชที่ระดับความเข้มข้นดังกล่าว สารสกัดทะโล้ และหมีเหม็นจึงมีประสิทธิภาพที่ดีในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชจาก 200 เป็น 500 พีพีเอ็ม พบว่า อิมัลชันทุกชนิดมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น ยกเว้นสารสกัดตัวเกลี้ยงและส้มกุ่มที่ยังคงมีค่า PV ตลอดอายุการเก็บรักษาใกล้เคียงตัวอย่างควบคุม (ภาพที่ 4.2B) สารสกัดพืชทั้งสองชนิดนี้จึงไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้ในระบบอิมัลชัน รวมถึงอาจแสดงสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนท์ (pro-oxidant) ที่สามารถเร่งการออกซิเดชันของไขมันได้ (Sahu และคณะ, 1993; Cao และคณะ, 1997) นอกจากนี้ การเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ใช้ ส่งผลให้อิมัลชันที่เติมสารทะโล้ ผักไผ่ และหมีเหม็นมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนเพิ่มสูงขึ้น โดยมีค่า PV ตลอดอายุการเก็บรักษาไม่เกิน 10 meq peroxide อีกทั้งการเติมสารสกัดพืชทั้งสามชนิด ยังมีประสิทธิภาพดีกว่าการเติม BHT 100 พีพีเอ็มอีกด้วย

เมื่อพิจารณาความแตกต่างของการเติมสารสกัดพืชที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้น ส่งผลให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย ทั้งนี้ความสามารถดังกล่าวจะเพิ่มขึ้นมากน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัดพืช จึงกล่าวได้ว่า ชนิดและองค์ประกอบที่พบในพืชมีบทบาทสำคัญต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน นอกเหนือไปจากปัจจัยอื่นๆ เช่น ชนิดและองค์ประกอบของกรดไขมัน อุณหภูมิ แสงออกซิเจน สภาวะทดสอบ เป็นต้น (McClements และ Decker, 2000) จากผลการวิเคราะห์ค่า PV แสดงว่าการใช้สารสกัดทะโล้ทั้งสองความเข้มข้นมีประสิทธิภาพสูงที่สุด ในการยับยั้งการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน



(A)



(B)

ภาพที่ 4.2 ค่าเปอร์ออกไซด์ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮั่นน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล่, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

• ค่า TBARS

การวิเคราะห์ด้วยวิธี TBARS ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืช อาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างรีเอเจนต์ Thiobarbituric acid กับผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation products) ที่ได้จากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้แก่ สารในกลุ่มอัลดีไฮด์ คีโตน สารประกอบไฮโดรคาร์บอน แอลกอฮอล์ เป็นต้น ซึ่งสารในกลุ่มนี้มีบทบาทสำคัญต่อการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในไขมันและน้ำมันชนิดต่างๆ (Gray,

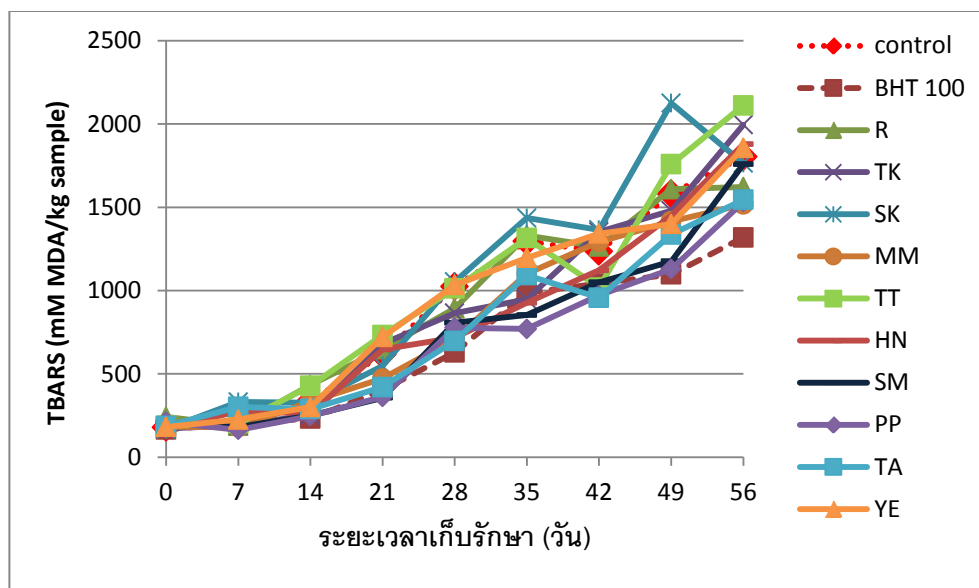
1978; Hawrysh, 1990) อีกทั้ง วิธีนี้ยังถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางในการวิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัว (Laguerre และ คณะ, 2007)

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

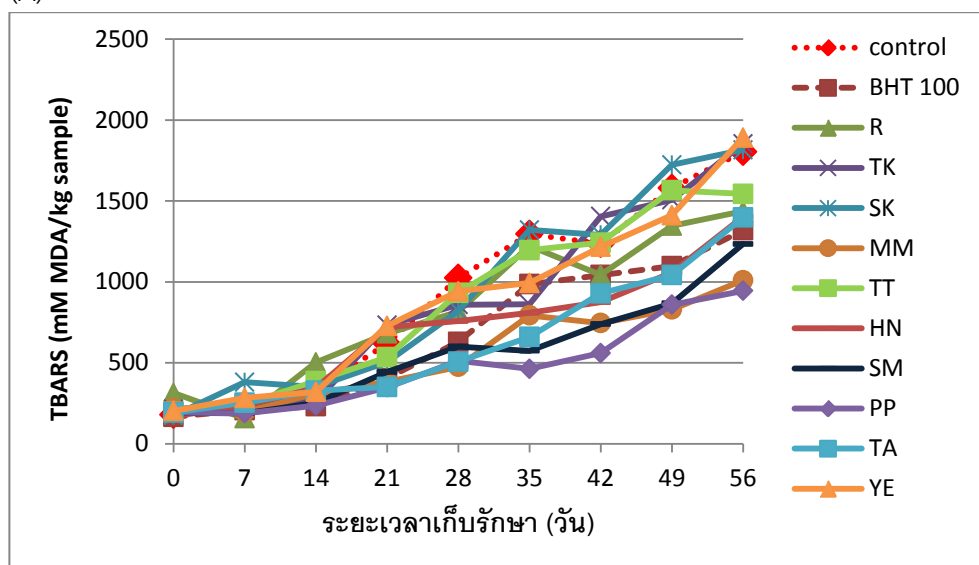
ค่า TBARS ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชจำนวน 10 ชนิด ที่อายุการเก็บรักษา 56 วัน แสดงค่าในรูปมิลลิโมลาร์มาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง (mM MDA/kg sample) ผลการทดลองสอดคล้องกับการวัดปริมาณ PV ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาออกซิเดชันชั้นปฐมภูมิ โดยค่า TBARS จะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา (ภาพที่ 4.3)

เมื่อพิจารณาตัวอย่างอิมัลชันควบคุม (Control; ไม่เติม BHT) และอิมัลชันที่เติม BHT เข้มข้น 100 พีพีเอ็ม (BHT 100) พบว่า มีค่า TBARS ตลอดอายุการเก็บรักษานาน 56 วัน โดยมีค่าเริ่มต้น (วันที่ 0) และค่าสุดท้าย (วันที่ 56) เท่ากับ 179 และ 1,804 กับ 166 และ 1,319 มิลลิโมลาร์มาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3A) โดยการเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษา มีผลให้ค่า TBARS เพิ่มขึ้น แต่การเติม BHT ซึ่งเป็นสารกันหืนสังเคราะห์ ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายที่ความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม ทำให้ค่า TBARS ในอิมัลชันลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอิมัลชันควบคุม แสดงว่า BHT มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชันทดสอบได้

การเติมสารสกัดพืชที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็มลงในอิมัลชัน (ภาพที่ 4.3A) พบว่า สารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิด มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนใกล้เคียงกับ BHT ในช่วง 14 วันแรกเท่านั้น ส่วนการเพิ่มการเก็บรักษาจากวันที่ 14 ไป จนถึงวันที่ 56 นั้น พบว่า การเติมสารสกัดพืชทุกชนิดในอิมัลชันค่า TBARS สูงกว่าอิมัลชันที่เติม BHT แสดงว่า สารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพต่ำกว่า BHT 100 พีพีเอ็ม อีกทั้งยังพบสารสกัดพืชจำนวน 4 ชนิด คือ หญ้าเอ็นเลื้อย ตะไคร้ตัน ส้มกุ่ม และตัวเกลี้ยง มีค่า TBARS สูงกว่าตัวอย่างควบคุม (Control) ซึ่งความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ต่างกันนี้อาจเนื่องมาจาก สารต้านออกซิเดชันที่เป็นองค์ประกอบในพืช มีความแตกต่างกันทั้งในแง่ของชนิด สารประกอบ ปริมาณที่พบ ลักษณะโครงสร้างและความไวของสารต่อการทำปฏิกิริยา (Silva และ คณะ, 2007; Matkowski, 2008) ตลอดจน ความเหมาะสมต่อระบบที่นำไปใช้ (McClement และ Decker, 2000) เมื่อเพิ่มสารสกัดพืชจากความเข้มข้น 200 เป็น 500 พีพีเอ็ม พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชส่งผลให้อิมัลชันที่ประกอบด้วยสารสกัดพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีขึ้น โดยมีค่า TBARS ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม และยังพบสารสกัดพืชหลายชนิดที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพสูงกว่า BHT สารสกัดพืชที่มีศักยภาพในการกันหืนในอิมัลชัน โดยพิจารณาจากค่า TBARS ที่ต่ำที่สุดตลอดอายุการเก็บรักษา ได้แก่ ผักไผ่ รองลงมาได้แก่ หมีเหม็น และ ผักสมุย (ภาพที่ 4.3B) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มปริมาณสารสกัดหญ้าเอ็นเลื้อย ตะไคร้ตัน ส้มกุ่ม และตัวเกลี้ยงในอิมัลชันไม่มีผลต่อการยับยั้งการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากค่า TBARS ที่วิเคราะห์ได้ยังคงมีค่าใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม แสดงให้เห็นว่า สารต้านออกซิเดชันที่เป็นองค์ประกอบในพืชทั้ง 4 ชนิดนี้ มีค่า TBARS ต่ำ หรืออีกนัยหนึ่งคือ มีฤทธิ์ยับยั้งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ต่ำ และไม่เหมาะสมต่อระบบอิมัลชันนี้



(A)



(B)

ภาพที่ 4.3 ค่า TBARS ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ตัน, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล่, YE=หญ้าเอ็นเสือ

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

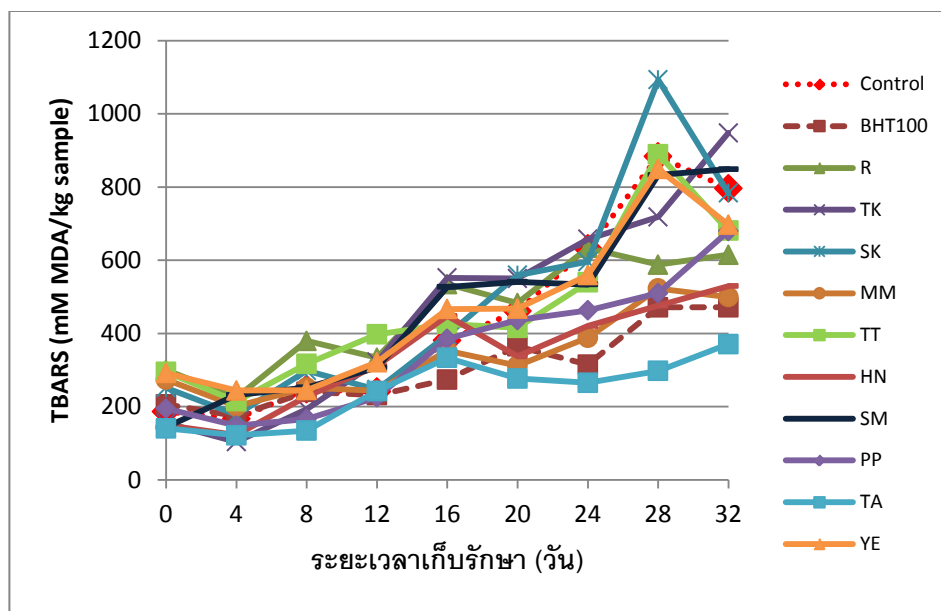
การเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ตลอดการเก็บรักษา 32 วัน ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่า PV ที่พบว่า การเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษาส่งผลให้ค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามไปด้วย (ภาพที่ 4.4) โดยอิมัลชันควบคุมมีค่า TBARS ในวันที่ 0-32 อยู่

ระหว่าง 187-796 มิลลิโมลาร์มาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง แต่การเติม BHT 100 พีพีเอ็มทำให้การออกซิเดชันของไขมันลดลง มีค่า TBARS อยู่ระหว่าง 183-471 มิลลิโมลาร์มาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมตัวอย่าง แสดงให้เห็นว่า การเติม BHT สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันได้ทั้งสองแบบ คือ การสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และการสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ให้เป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิต่างๆ

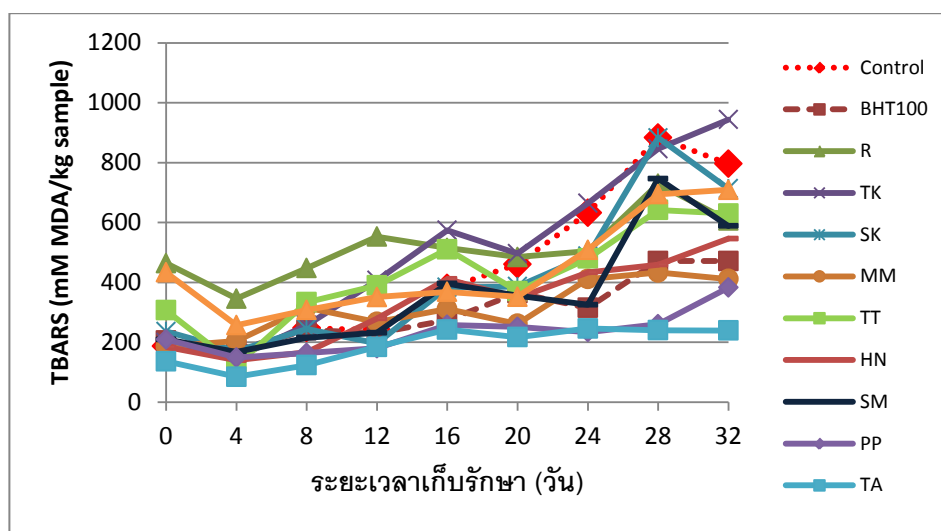
การเติมสารสกัดพืชที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้ อิมัลชันมีค่า TBARS แตกต่างกันตามไป โดยพบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเล 200 พีพีเอ็ม ค่า TBARS ต่ำที่สุด หรือมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือ การใช้สารสกัดหมีเหม็นและผักอาน้ำ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.4A) ในทางตรงกันข้าม การเติมสารสกัดตัวเกลี้ยงและผักสมุยที่ความเข้มข้นเดียวกันนี้ อิมัลชันทั้ง 2 มีค่า TBARS สูงกว่าอิมัลชันควบคุม ดังนั้น ความแตกต่างระหว่างชนิดของพืชส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ส่วนการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชในอิมัลชันให้เป็น 500 พีพีเอ็ม (ภาพที่ 4.4B) พบว่า อิมัลชันทุกๆ ชนิดของสารสกัดพืชมี มีค่า TBARS ลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา ยกเว้น การเติมสารสกัดตัวเกลี้ยง หญ้าเอ็นเสือ และตะไคร้ต้นที่มีค่า TBARS ใกล้เคียงกันระหว่างการใช้ที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็ม ซึ่งความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน เนื่องมาจากองค์ประกอบที่ต่างกันไปในพืชแต่ละชนิด รวมถึง ความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในระบบทดสอบประสิทธิภาพในการต้านการหืนเพิ่มขึ้น

จากผลการทดลองพบว่า การใช้สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้น (200 และ 500 พีพีเอ็ม) ในอิมัลชันนั้น มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด อีกทั้งยังมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็มอีกด้วย ส่วนการใช้สารสกัดหมีเหม็น มีประสิทธิภาพรองลงมาโดยมีความสามารถใกล้เคียงกับการใช้ BHT

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านการหืนของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืช ในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 และ 70 เปอร์เซ็นต์ ด้วยวิธี TBARS พบว่า สารสกัดพืชแต่ละชนิดมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกัน และการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืช ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม โดยการใช้สารสกัดผักไผ่ หมีเหม็น และ ผักสมุยที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนด้วยวิธีนี้สูงที่สุด



(A)



(B)

ภาพที่ 4.4 ค่า TBARS ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

• ค่า p-Anisidine (p-Anisidine Value, p-AV)

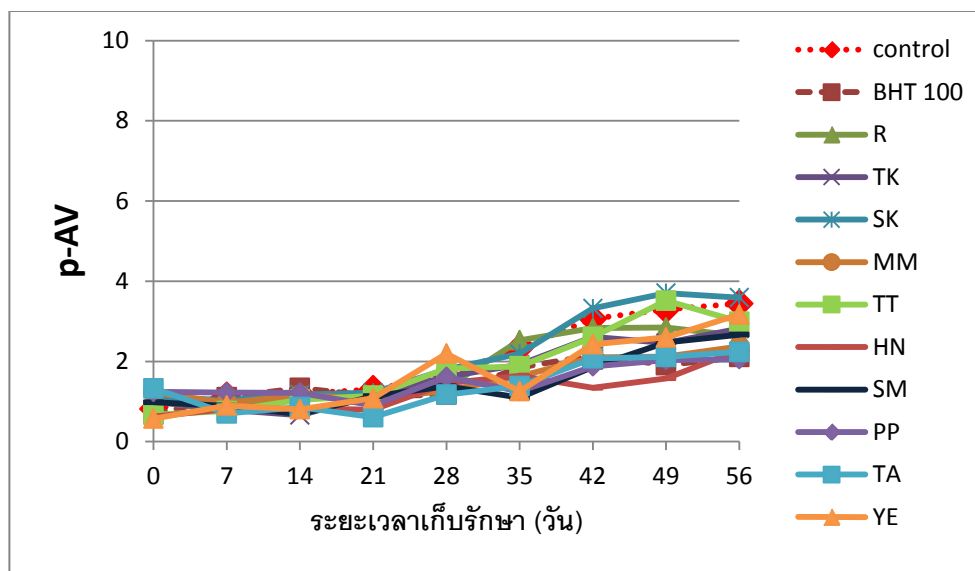
การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation products) อีกวิธีหนึ่งที่ได้รับนิยมนิยม คือ การหาค่า p-Anisidine (p-AV) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยาระหว่างหมู่คาร์บอนิลของอัลดีไฮด์กับหมู่อะมิโนของ p-Anisidine ซึ่งวิธีนี้เหมาะสมต่อการวิเคราะห์สารประกอบอัลดีไฮด์ที่ไม่ระเหย ในกลุ่ม 2-

อัลคีนัล และ 2,4 แอลคาไดอินัล (Shahidi และ Wanasundara, 2007) รวมถึงยังเป็นการวัดปริมาณสารประกอบอัลดีไฮด์ ทั้งหมด เนื่องจากการทำปฏิกิริยาโครงสร้างของอัลดีไฮด์โดยตรง (Laguerre และคณะ, 2007)

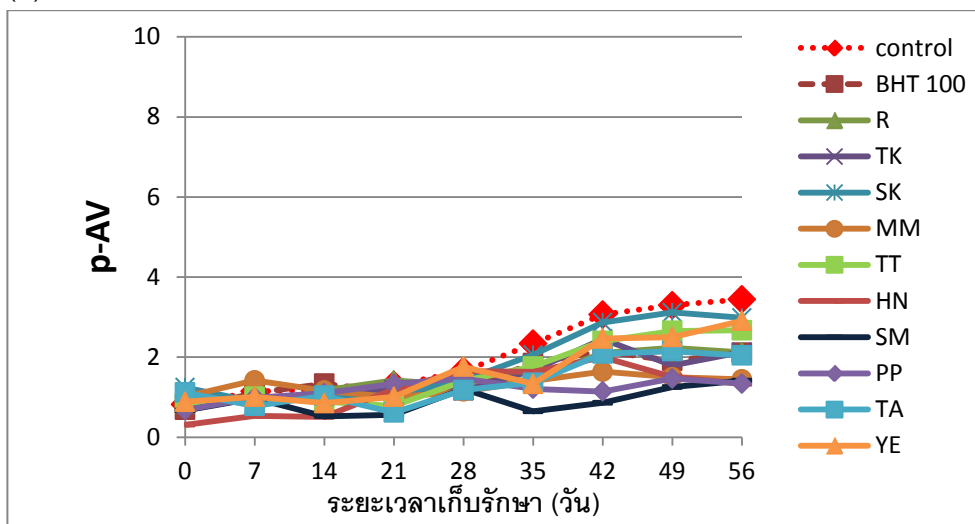
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

การเปลี่ยนแปลงค่า p-AV ของอิมัลชันทดสอบทุกชนิดตลอดอายุการเก็บรักษา 56 วัน พบ การเปลี่ยนแปลงค่า p-AV น้อยมากเมื่อเทียบกับวิธีวิเคราะห์อื่นๆ โดยค่า p-AV ของตัวอย่างควบคุม (ไม่เติม BHT) ตลอดระยะเวลา 56 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.816 เป็น 3.44 ในขณะที่การเติม BHT 100 พีพีเอ็ม ในอิมัลชัน ทำให้ค่า p-AV ลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม โดยมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 0.682 เป็น 2.11 แสดงว่า BHT เป็นสารต้านการหืนที่สามารถออกฤทธิ์ได้ดี ทั้งการยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิ) และการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ)

ผลการเติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็มลงในอิมัลชัน (ภาพที่ 4.5A) พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีค่า p-AV ใกล้เคียงกันตลอดการเก็บนาน 35 วัน และสารสกัดพืชเกือบทุกชนิด ยกเว้น สารสกัดส้มกุ่ม มีค่า p-AV ต่ำกว่า หรือ สามารถยับยั้งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม สารสกัดส้มกุ่ม มีค่า p-AV เพิ่มขึ้นจาก 1.11 เป็น 3.59 ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมและสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆที่นำมาศึกษา เมื่อพิจารณาค่า p-AV ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชเปรียบเทียบกับ การเติม BHT 100 พีพีเอ็ม พบว่า มีแนวโน้มแบบเดียวกับที่พบในวิธีวิเคราะห์อื่นๆ กล่าวคือ การเติมสารสกัดพืชที่ความเข้มข้นต่ำนี้ มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนต่ำกว่าการใช้ BHT เมื่อเพิ่มสารสกัดพืชเป็น 500 พีพีเอ็มในอิมัลชัน พบว่า สารสกัดพืชทุกชนิดมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนเพิ่มสูงขึ้น (ภาพที่ 4.5B) อีกทั้งมีค่า p-AV แตกต่างกันอย่างชัดเจนในวันที่ 42 ส่วนการใช้สารสกัดผักไผ่ หมี่เหม็น และ ผักสมุยที่ความเข้มข้นนี้ มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็มอีกด้วย อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์ค่า p-AV ของสารสกัดส้มกุ่มทั้งสองความเข้มข้น มีค่าสูงที่สุดในกลุ่มพืชที่ทำการทดสอบ แสดงให้เห็นว่า สารสกัดส้มกุ่มไม่เหมาะสมที่จะนำมาใช้ระบบอิมัลชันนี้ นอกจากนี้ การวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิด้วยวิธี TBARS และวิธี p-AV ให้ผลที่สอดคล้องกัน โดยสารสกัดผักไผ่ หมี่เหม็น และ ผักสมุยที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนด้วยวิธีนี้สูงที่สุด



(A)



(B)

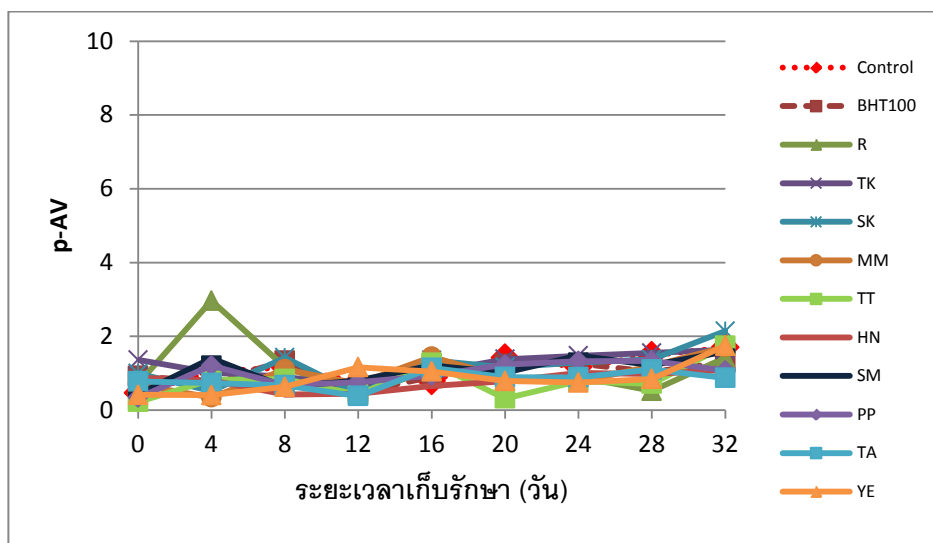
ภาพที่ 4.5 ค่า p-AV ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชาวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

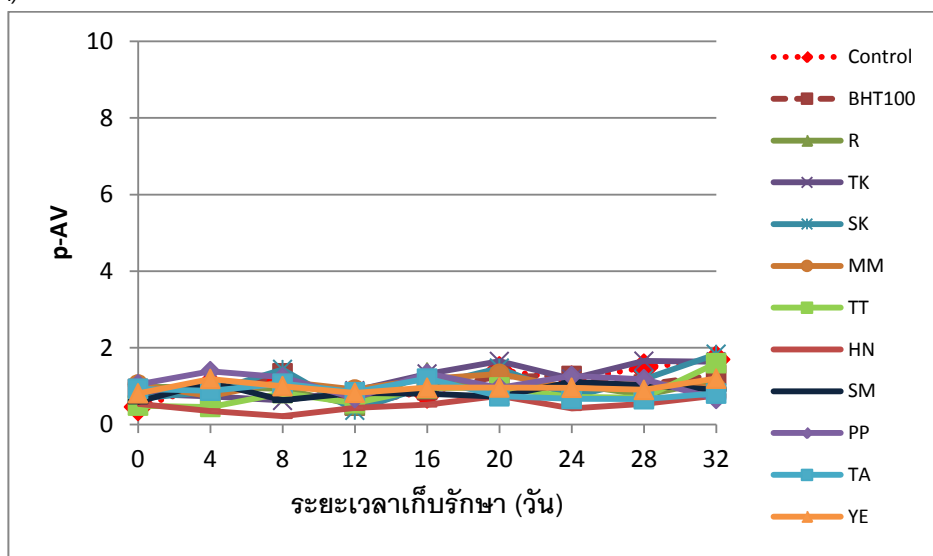
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

การเปลี่ยนแปลงค่า p-AV ในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 32 วัน โดยค่า p-AV ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทุกตัวอย่างที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็ม ให้ผลการทดลองดังภาพที่ 4.6 อย่างไรก็ตาม การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชให้สูงขึ้นนั้น เป็นการเพิ่มความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยตรง ส่งผลให้ ค่า p-AV ของอิมัลชันที่

เติมสารสกัดพืช 500 พีพีเอ็มมีค่าต่ำกว่าที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (ภาพที่ 4.6A และ 4.6B) แต่อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชบางชนิด เช่น ส้มกุ่ม และ ตัวเกลี้ยงนั้น มีค่า p-AV สูงกว่าอิมัลชันควบคุม แสดงว่า การเพิ่มปริมาณของสารสกัดพืชที่ใช้มีความสัมพันธ์กับความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่เพิ่มขึ้น แต่การเปลี่ยนแปลงใดๆก็ขึ้นอยู่กับชนิดของสารสกัดพืชที่เลือกใช้ จากผลการทดลอง สารสกัดทะเล เป็นสารสกัดที่มีความเหมาะสมในการนำมาใช้ในอิมัลชัน ทั้งที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็ม โดยสามารถยับยั้งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ดีที่สุด รวมทั้งยังมีประสิทธิภาพสูงกว่า BHT 100 พีพีเอ็มอีกด้วย



(A)



(B)

ภาพที่ 4.6 ค่า p-AV ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชาวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮั่นน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

• การเปลี่ยนแปลงค่า ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox Value)

การคำนวณปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox Value, Totox V) ทำได้โดยการหาผลรวมระหว่าง ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) และค่า p-AV สามารถนำมาใช้ประเมินการเสื่อมสภาพของไขมันจากการออกซิเดชันได้ (Laguerre และ คณะ, 2007) ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดหรือค่า Totox V ที่คำนวณได้ตลอดระยะเวลา 0-56 วัน แสดงดังภาพที่ 4.7 และ 4.8

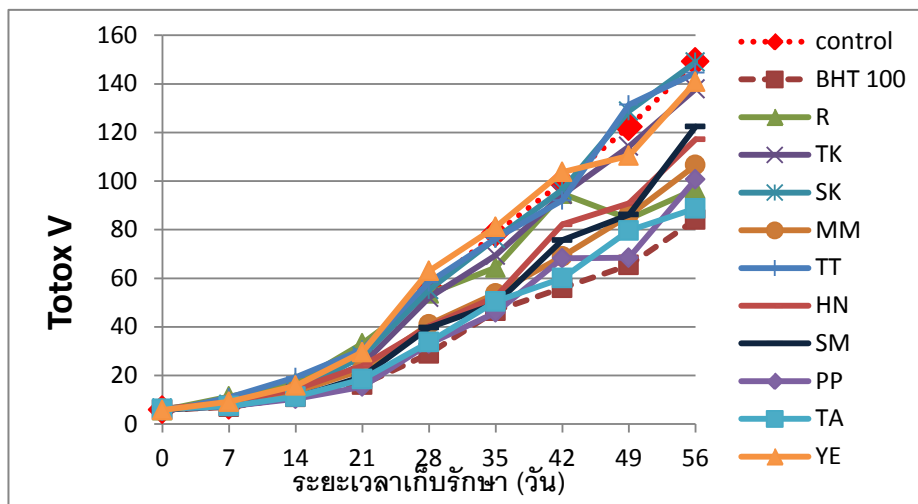
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

การเปลี่ยนแปลงของค่า Totox V มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกันกับที่พบในค่า PV โดยปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดจะมีค่าเพิ่มตลอดอายุการเก็บรักษา โดยค่า Totox V ของตัวอย่างควบคุมเพิ่มขึ้นจาก 5.86 เป็น 149 แต่การเติม BHT 100 พีพีเอ็มในอิมัลชัน ทำให้ค่า Totox V เพิ่มขึ้นเป็น 84.13 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม (ภาพที่ 4.7B) ส่งผลให้ค่า Totox V ต่ำกว่าการใช้ที่ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (ภาพที่ 4.7A) โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดหมีเหม็น ผักไผ่ ผักสมุย และผักฮั่นน้ำ ทำให้ค่า Totox V ลดลงประมาณ 2 เท่า อีกทั้งยังทำให้สารสกัดพืชกลุ่มนี้มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ยังพบอีกด้วยว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลที่ความเข้มข้น 200 และ 500 พีพีเอ็มมีปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดต่ำที่สุด มีค่าเท่ากับ 88.7 และ 60.8 แสดงว่า สารสกัดทะเลมีประสิทธิภาพโดยรวมในการต้านการหืน เนื่องจากสารสกัดทะเลเป็นสารมีความเป็นขั้วสูง สามารถละลายได้ดีในเฟสน้ำ ซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติ polar paradox ที่พบว่า สารต้านออกซิเดชันที่มีขั้วสูงจะมีประสิทธิภาพที่ดีในการต้านออกซิเดชันส่วนของน้ำมัน (Porter และ คณะ, 1989)

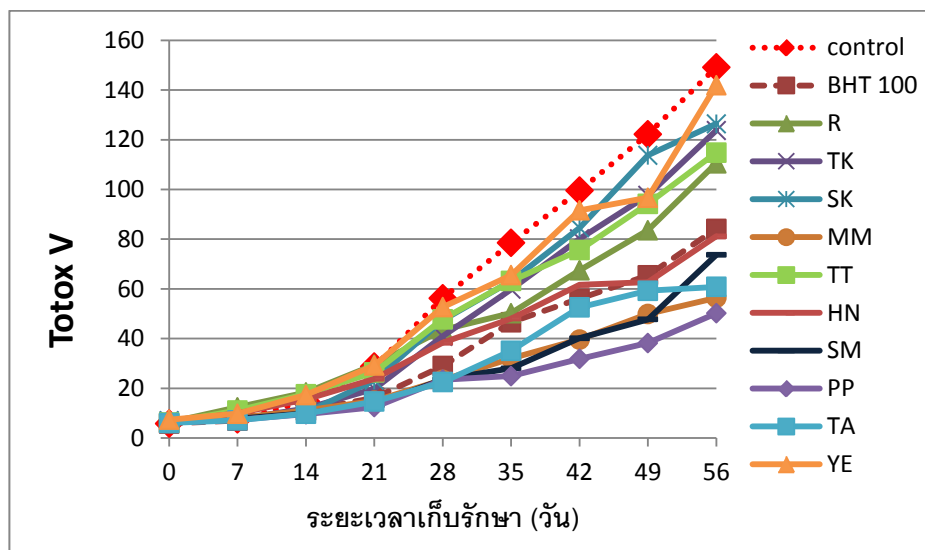
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ของสารสกัดพืชทุกชนิด จะแปรผันตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.8) โดยเมื่อครบกำหนด 32 วัน อิมัลชันควบคุมมีค่า Totox V สูงกว่าอิมัลชันที่เติม BHT 100 พีพีเอ็ม ประมาณ 2 เท่า ส่วนค่า Totox V ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชไม่เพียงแต่แปรผันตามระยะเวลาเก็บรักษายังขึ้นอยู่กับชนิดของพืชอีกด้วย ซึ่งการเติมสารสกัดพืชทั้งสองความเข้มข้นส่งผลให้มีค่า Totox V ต่ำกว่าอิมัลชันควบคุม แต่สารสกัดพืชหลายชนิด เช่น สารสกัดตัวเกลี้ยง ส้มกุ่ม และหญ้าเอ็นเสื่อ ไม่มีฤทธิ์ต้านการหืน โดยมีค่า Totox V สูงกว่าหรือเทียบเท่ากับอิมัลชันควบคุม เมื่อเปรียบเทียบผลของการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชจาก 200 เป็น 500 พีพีเอ็ม พบว่า สารสกัดพืชทั้งหมดมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่ง อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเล ผักไผ่ และหมีเหม็น ที่มีค่า Totox V ลดลงประมาณ 2 เท่า อีกทั้งการใช้สารสกัดพืชทั้ง 3 ชนิดนี้ยังมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า สารสกัดทะเลเป็นสารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในทุกวิถีวิเคราะห์ มีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์และการสลายตัวเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ



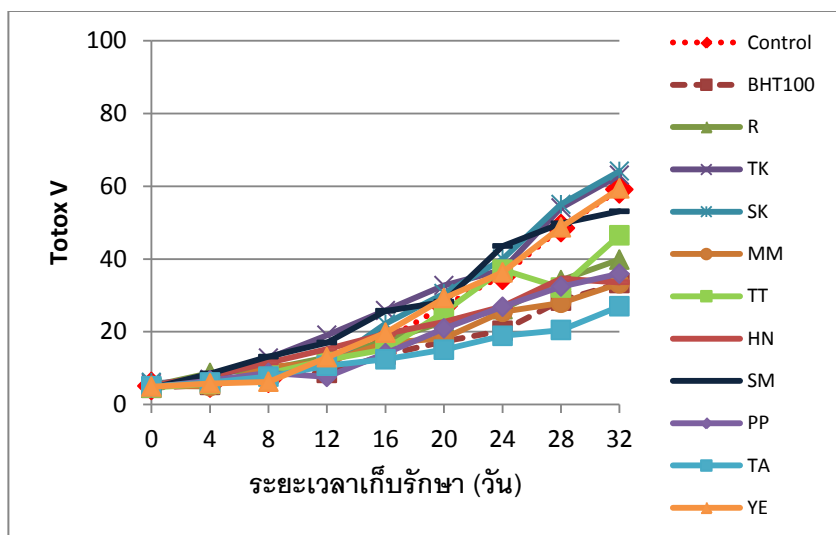
(A)



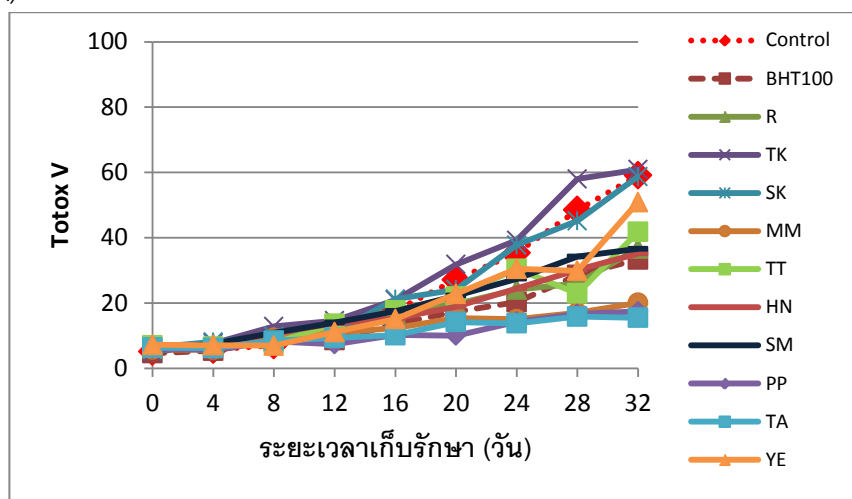
(B)

ภาพที่ 4.7 ค่า Totox V ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ต้วเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเลใต้, YE=หญ้าเอ็นเสือ



(A)



(B)

ภาพที่ 4.8 ค่า Totox V ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เติมสารสกัดพืชเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม (A) และ 500 พีพีเอ็ม (B)

หมายเหตุ R=ราชวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมีเหม็น, TT=ตะไคร้ต้น, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล่, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

4.2.3 อัตราการเกิดออกซิเดชันในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่เติมสารสกัดพืช

การคัดเลือกสารสกัดพืชที่เหมาะสมในการต้านออกซิเดชันของอิมัลชัน ในแต่ละความเข้มข้น จะพิจารณาจากค่าคงที่ของการเกิดปฏิกิริยา (k) โดยสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการออกซิเดชันของไขมัน (C) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) พบว่า การออกซิเดชันของไขมันเป็นไปตามความสัมพันธ์ปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (First order reaction) และมีค่า k และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ที่คำนวณได้ในแต่ละวิธีวิเคราะห์

• **อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์**

เมื่อพิจารณาค่า k ของวิธีวิเคราะห์ต่างๆ (ตารางที่ 4.3) พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาดำกว่าตัวอย่างควบคุม สอดคล้องกับความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืชดังที่อธิบายในแต่วิธีวิเคราะห์ นอกจากนี้ การเติมสารสกัดพืชหลายชนิด ได้แก่ หมี่เหม็น ผักสมุย ผักไผ่และทะเลทั้งสองระดับความเข้มข้น มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีกว่าหรือเทียบเท่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม โดยพบว่า ค่า k ของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้ง 4 ชนิดนี้ที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มมีค่าต่ำกว่าค่าของ k อิมัลชันเติม BHT

การเติมสารสกัดทะเลที่ระดับความเข้มข้นทั้งสอง มีอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาดำที่สุด และยังมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างเติม BHT รวมไปถึง อิมัลชันที่เตรียมได้มีลักษณะทางกายภาพที่ดี มีสีเหลืองอ่อนใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม และมีผลิตภัณฑ์มีความคงตัวดีตลอดอายุการเก็บรักษา 56 วัน เช่นเดียวกับสารสกัดผักไผ่ ที่ไม่เพียงแต่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีเท่านั้น ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ยังใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม และมีความคงตัวดีตลอดอายุการเก็บรักษาอีกด้วย ในขณะที่การใช้สารสกัดหมี่เหม็นและผักสมุย ส่งผลให้สีของอิมัลชันเข้มขึ้น อีกทั้งอิมัลชันเติมผักสมุยตรวจพบการเสียดสภาพแบบ oiling off ในวันที่ 56 ของการเก็บรักษาและอิมัลชันมีสีเขียวซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอีกด้วย (Batista และคณะ, 2006) ดังนั้น สารสกัดพืช 2 ชนิด ที่เหมาะสมต่ออิมัลชันแบบน้ำในน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ ได้แก่ สารสกัดทะเลและผักไผ่ โดยกำหนดความเข้มข้นสำหรับการศึกษาขั้นต่อไป คือ สารสกัดทะเลที่ความเข้มข้น 300 และ 500 พีพีเอ็ม ตามลำดับ และสารสกัดผักไผ่ที่ความเข้มข้น 250 และ 500 พีพีเอ็ม ตามลำดับ การปรับเปลี่ยนความเข้มข้นของสารสกัดพืชทั้งสองชนิดจาก 200 เป็น 300 และ 250 พีพีเอ็ม ตามลำดับ ได้จากการคำนวณค่าความเข้มข้น โดยอ้างอิงจากประสิทธิภาพการต้านการหืนออกซิเดชันของ BHT 100 พีพีเอ็ม เนื่องจากการใช้สารสกัดทั้งสองชนิดที่ความเข้มข้นระดับต่ำให้ผลการต้านออกซิเดชันต่ำกว่าการใช้ BHT ในบางวิธีวิเคราะห์

ตารางที่ 4.3 ค่าคงที่ของการเกิดปฏิกิริยา (k) ของผลิตภัณฑ์จากการหืนของไขมันในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

ตัวอย่าง* ppm	PV			TBARS			p-AV			Totox V		
	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}
	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)
Control	0.065	0.949	10.7	0.045	0.922	15.6	0.027	0.964	25.5	0.062	0.954	11.1
BHT 100	0.054	0.971	12.9	0.041	0.943	16.9	0.018	0.816	38.4	0.051	0.974	13.5
SK 200	0.064	0.957	10.8	0.045	0.920	15.5	0.027	0.918	26.1	0.061	0.960	11.3
500	0.062	0.954	11.2	0.042	0.942	16.7	0.024	0.821	28.8	0.059	0.955	11.7
MM 200	0.056	0.967	12.3	0.043	0.945	16.0	0.016	0.822	44.2	0.054	0.971	13.0
500	0.045	0.982	15.4	0.031	0.942	22.5	0.006	0.443	111.7	0.042	0.986	16.5
R 200	0.053	0.900	13.0	0.040	0.899	17.2	0.025	0.853	28.3	0.051	0.908	13.6
500	0.050	0.955	13.7	0.035	0.801	20.0	0.017	0.859	41.3	0.048	0.963	14.3
YE 200	0.061	0.938	11.3	0.043	0.911	15.9	0.029	0.872	23.5	0.060	0.940	11.6
500	0.056	0.963	12.4	0.040	0.940	17.4	0.024	0.859	29.5	0.054	0.966	12.8

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

ตัวอย่าง* ppm		PV			TBARS			p-AV			Totox V		
		k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}
		(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)
TT	200	0.061	0.946	11.4	0.044	0.913	15.8	0.031	0.959	22.6	0.059	0.950	11.7
	500	0.054	0.957	12.9	0.040	0.937	17.1	0.025	0.854	28.3	0.052	0.962	13.3
SM	200	0.060	0.975	11.5	0.043	0.941	16.3	0.021	0.780	32.3	0.058	0.976	12.0
	500	0.046	0.990	15.0	0.034	0.954	20.2	0.012	0.366	59.3	0.044	0.988	15.6
PP	200	0.057	0.970	12.1	0.041	0.930	16.9	0.011	0.582	61.4	0.054	0.970	12.9
	500	0.041	0.975	16.8	0.031	0.957	22.5	0.009	0.535	75.1	0.039	0.977	17.7
TA	200	0.055	0.968	12.5	0.039	0.953	17.9	0.019	0.565	36.5	0.053	0.970	13.2
	500	0.050	0.971	14.0	0.035	0.991	19.6	0.018	0.619	38.1	0.047	0.971	14.7
HN	200	0.056	0.976	12.3	0.042	0.957	16.4	0.021	0.866	32.8	0.055	0.978	12.7
	500	0.046	0.958	15.2	0.036	0.899	19.5	0.029	0.689	24.2	0.045	0.955	15.4
TK	200	0.063	0.958	11.0	0.047	0.937	14.9	0.026	0.833	27.0	0.061	0.959	11.4
	500	0.060	0.969	11.6	0.042	0.927	16.5	0.018	0.848	38.4	0.058	0.971	12.1

หมายเหตุ * หมายถึง สารสกัดพืช 10 ชนิด ได้แก่ R=ราชวดีป่า, TK=ต้วเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมี่เหม็น, TT=ตะไคร้ดิน, HN=ผักฮั่นน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

• อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ ที่วิเคราะห์ได้เป็นไปตามความสัมพันธ์ปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (First order reaction) มีค่า k และค่าครึ่งชีวิต (t_{1/2}) ที่คำนวณได้ในแต่ละวิธีวิเคราะห์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าคงที่ของการเกิดปฏิกิริยา (k) ของผลิตภัณฑ์จากการหืนของไขมันในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

ตัวอย่าง* ppm		PV			TBARS			p-AV			Totox V		
		k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}
		(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)
Control		0.0890	0.977	7.8	0.0555	0.946	12.5	0.029	0.601	24.0	0.0845	0.985	8.2
BHT	100	0.0883	0.977	7.9	0.0587	0.959	11.8	0.024	0.860	28.6	0.0840	0.979	8.3
SK	200	0.0693	0.991	10.0	0.0304	0.888	22.8	0.013	0.189	53.6	0.0640	0.987	10.8
	500	0.0653	0.979	10.6	0.0426	0.946	16.3	0.027	0.487	25.4	0.0629	0.973	11.0
MM	200	0.0902	0.970	7.7	0.0508	0.851	13.7	0.028	0.373	24.5	0.0855	0.967	8.1
	500	0.0765	0.980	9.1	0.0476	0.827	14.6	0.021	0.213	33.3	0.0731	0.979	9.5
R	200	0.0648	0.959	10.7	0.0266	0.791	26.1	0.029	0.427	24.3	0.0621	0.952	11.2
	500	0.0437	0.937	15.9	0.0247	0.787	28.0	0.004	0.052	197.3	0.0398	0.931	17.4
YE	200	0.0696	0.982	10.0	0.0298	0.797	23.3	0.010	0.034	72.0	0.0619	0.983	11.2
	500	0.0600	0.987	11.6	0.0142	0.566	48.7	0.002	0.008	298.3	0.0557	0.988	12.5

ตารางที่ 4.4 (ต่อ)

ตัวอย่าง* ppm		PV			TBARS			p-AV			Totox V		
		k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}	k	r ²	t _{1/2}
		(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)	(days ⁻¹)		(days)
TT	200	0.0887	0.969	7.8	0.0385	0.866	18.0	0.033	0.586	21.1	0.0861	0.972	8.1
	500	0.0705	0.945	9.8	0.0248	0.602	27.9	0.003	0.075	203.4	0.0659	0.947	10.5
SM	200	0.0778	0.963	8.9	0.0363	0.836	19.1	0.031	0.264	22.5	0.0752	0.971	9.2
	500	0.0605	0.919	11.5	0.0355	0.599	19.5	0.026	0.540	26.5	0.0587	0.923	11.8
PP	200	0.0783	0.952	8.9	0.0542	0.945	12.8	0.028	0.495	24.5	0.0750	0.953	9.2
	500	0.0630	0.978	11.0	0.0410	0.809	16.9	0.010	0.245	67.3	0.0597	0.982	11.6
TA	200	0.0703	0.962	9.9	0.0476	0.891	14.6	0.028	0.479	24.6	0.0672	0.962	10.3
	500	0.0425	0.943	16.3	0.0214	0.664	32.5	0.008	0.099	88.1	0.0368	0.938	18.8
HN	200	0.0558	0.984	12.4	0.0335	0.760	20.7	0.013	0.188	53.8	0.0523	0.990	13.3
	500	0.0364	0.934	19.0	0.0287	0.680	24.1	0.010	0.322	66.8	0.0324	0.937	21.4
TK	200	0.0616	0.935	11.3	0.0434	0.829	16.0	0.016	0.246	44.1	0.0582	0.951	11.9
	500	0.0574	0.984	12.1	0.0418	0.855	16.6	0.019	0.288	36.6	0.0558	0.987	12.4

หมายเหตุ * หมายถึง สารสกัดพืช 10 ชนิด ได้แก่ R=ราชวดีป่า, TK=ตัวเกลี้ยง, SK=ส้มกุ่ม, MM=หมี่เหม็น, TT=ตะไคร้ดิน, HN=ผักฮ้านน้ำ, SM=ผักสมุย, PP=ผักไผ่, TA=ทะเล, YE=หญ้าเอ็นเสื่อ

เมื่อพิจารณาค่า k ของผลิตภัณฑ์จากการหั่นของไขมันทั้ง 4 พบว่า การเติมสารสกัดพืชลงในอิมัลชันส่วนใหญ่ส่งผลต่ออัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ให้มีค่าลดลง (มีค่า k ลดลง) ในทางตรงกันข้าม ค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) จะมีค่าเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่า k จะแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมมากหรือน้อยนั้นเป็นผลมาจากความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่เติมลงไป โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเติมสารสกัดพืชที่มีความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาดำกว่าที่ระดับ 200 พีพีเอ็มในทุกวิธี

การเติมสารสกัดพืชในระดับความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม พบว่า ค่า k ในทุกวิธีวิเคราะห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน ระหว่างอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชกับอิมัลชันควบคุม อีกทั้งยังพบว่า สารสกัดพืชหลายชนิดที่มีค่า k และค่าครึ่งชีวิตต่ำกว่าอิมัลชันควบคุม เช่น ส้มกุ่ม ราชวดีป่า หญ้าเอ็นเสื่อ เนื่องจากสารสกัดพืชที่มีค่าต่างๆ จากการทดสอบปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันสูงกว่าค่าที่ได้จากอิมัลชันควบคุมตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ด้วยเหตุนี้ การเติมสารสกัดพืชกลุ่มนี้จึงไม่มีความเหมาะสม เนื่องจาก การเติมสารสกัดพืชอาจเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ทั้งในชั้นปฐภูมิและชั้นทุติยภูมิในปริมาณมากกว่าอิมัลชันควบคุม ซึ่งการพิจารณาคัดเลือกสารสกัดพืชจึงเน้นไปที่สารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้ BHT 100 พีพีเอ็มและมีค่าที่วิเคราะห์ได้ในทุกวิธีทดสอบต่ำ ได้แก่ สารสกัดทะเลและผักไผ่ ส่วนการคัดเลือกสารสกัดพืชที่มีความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มนั้น พบว่า การใช้สารสกัดผักฮ้านน้ำ ทะเลและผักไผ่มีความเหมาะสมต่อระบบอิมัลชันนี้ เนื่องจากมีอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ต่ำและมีค่าครึ่งชีวิตเป็นระยะเวลานานกว่าอิมัลชันควบคุม รวมถึงยังมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม แต่อย่างไรก็ตาม การใช้สารสกัดผักฮ้านน้ำพบว่า เกิดการรวมตัวเป็นชั้นครีมนะที่ผิวหน้าในช่วงท้ายของการทดสอบ ซึ่งนำไปสู่การเสียสภาพ

แบบ creaming ได้ ดังนั้น การใช้สารสกัดทะเลและผักไผ่ จึงมีความเหมาะสมมากกว่าผักฮั่นน้ำในแง่ของลักษณะปรากฏและการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของผลิตภัณฑ์

อย่างไรก็ตาม การนำสารสกัดพืชทั้งสองชนิดมาใช้ในการทดสอบต่อไป จำเป็นต้องปรับเปลี่ยนความเข้มข้นให้เหมาะสม โดยพิจารณาค่าจากความเข้มข้นที่คำนวณขึ้นมาจากประสิทธิภาพของ BHT 100 พีพีเอ็ม ในทุกวิธีวิเคราะห์ ซึ่งความเข้มข้นของสารสกัดทะเลที่เหมาะสม คือ 300 และ 500 พีพีเอ็ม ส่วนสารสกัดผักไผ่ทำการทดสอบที่ความเข้มข้น 250 และ 500 พีพีเอ็ม สารสกัดพืชที่คัดเลือกได้ทั้งชนิดนี้ จะถูกนำไปทดสอบผลของอุณหภูมิและพีเอชที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันต่อไป

4.3 ผลของพีเอช และอุณหภูมิต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่เติมสารสกัดพืช

นำสารสกัดพืชที่คัดเลือกทั้งสองชนิดได้แก่ ทะเล (300 และ 500 พีพีเอ็ม) และผักไผ่ (250 และ 500 พีพีเอ็ม) มาเติมในอิมัลชันที่เตรียมในชั้นในสภาวะแตกต่างกัน คือ พีเอชเท่ากับ 3, 5.4 และ 7 แล้วนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส วิเคราะห์การออกซิเดชันของไขมันด้วยวิธี TBARS, PV, p-AV และ Totox V โดยเปรียบเทียบตัวอย่างอิมัลชันควบคุม (ไม่เติม BHT) และอิมัลชันที่เติม BHT 100 พีพีเอ็ม

4.3.1 ผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

การเก็บรักษาอิมัลชันแบบน้ำในน้ำมันที่มีพีเอช 3-7 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า อิมัลชันทุกชนิดที่เตรียมขึ้นจากพีเอชทั้ง 3 ระดับ ได้แก่ ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างเติม BHT100 พีพีเอ็ม อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (TA300) และ 500 พีพีเอ็ม (TA500) และอิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (PP250) และ 500 พีพีเอ็ม (PP500) นั้น ทุกตัวอย่างมีความคงตัวดีตลอดการเก็บรักษา 68 วัน มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน สีขาวขุ่นไม่พบการเสียสภาพใดๆ เมื่อเปรียบเทียบกับอิมัลชันในวันที่ 0 นอกจากนี้ การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชเป็น 500 พีพีเอ็ม ไม่ส่งผลต่อความคงตัวของระบบอิมัลชันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมินี้ แต่การเติมสารสกัดผักไผ่ทั้งสองระดับความเข้มข้นส่งผลให้อิมัลชันมีสีเหลืองเพิ่มขึ้นเล็กน้อย

การเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 56 วัน พบ การเสียสภาพของอิมัลชันแตกต่างกันไปในอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ ทั้ง 3 ระดับ และมีความแตกต่างกันตามความเข้มข้นของสารสกัดพืชอีกด้วย (ตารางที่ 4.5) โดยเมื่อเปรียบเทียบการเสียสภาพของอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด (ไม่เติม BHT และเติม BHT 100 พีพีเอ็ม) พบว่า เมื่อค่าพีเอชลดลง การเสียสภาพของอิมัลชันจะเพิ่มมากขึ้นโดยอิมัลชันควบคุมที่มีพีเอช 3 ตรวจพบการเสียสภาพแบบ oiling off ได้ตั้งแต่วันที่ 28 แต่อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้ง 4 ยังมีความคงตัวจนถึงวันที่ 35 จึงตรวจพบการเสียสภาพแบบ oiling off เช่นเดียวกัน นอกจากนี้ อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชที่พีเอชสูงกว่า มีความคงตัวไม่น้อยกว่า 42 วัน ส่วนการเสียสภาพของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืช นอกจากกับค่าพีเอชของอิมัลชันแล้ว ยังขึ้นกับความเข้มข้นที่ใช้อีกด้วย โดยที่พีเอชเดียวกัน อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลในระดับสูงมีความคงตัวดีกว่าอิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลในระดับต่ำ ในทางตรงกันข้าม พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ในระดับต่ำมีความคงตัวดีกว่าอิมัลชันที่ความเข้มข้นสารสกัดสูงกว่า และเมื่อ

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	pH	ตัวอย่าง*	ppm	ระยะเวลาเก็บรักษา(วัน)								
				0	7	14	21	28	35	42	49	56
	3	Control		-	-	O	O	F	F	F	C	S
		BHT	100	-	-	-	O	O	F	C	S	S
		TA	300	-	-	-	-	-	-	F	S	S
			500	-	-	-	-	-	-	C	C	S
		PP	250	-	-	O	O	F	F	F	C	S
			500	-	-	O	F	F	C	C	C	S
	5	Control		-	-	-	O	F	C	S	S	S
		BHT	100	-	-	-	O	O	C	C	S	S
TA		300	-	-	-	-	-	-	C	C	S	
		500	-	-	-	O	O	F	C	C	S	
PP		250	-	-	-	O	O	C	C	C	S	
		500	-	-	-	O	O	C	C	S	C	
7	Control		-	-	F	F	F	F	C	C	S	
	BHT	100	-	-	-	-	O	F	F	C	S	
	TA	300	-	-	-	-	F	F	C	C	S	
		500	-	-	O	O	F	C	S	S	S	
	PP	250	-	-	-	O	O	C	C	S	S	
		500	-	-	O	O	O	O	F	S	S	

หมายเหตุ * หมายถึง สารสกัดพืช TA=ทะเล, PP=ผักไผ่, - หมายถึง ไม่พบการเสียสภาพ

F หมายถึง การเสียสภาพแบบ flocculation, C หมายถึง การเสียสภาพแบบ coalescence

O หมายถึง การเสียสภาพแบบ oiling off, S หมายถึง การเสียสภาพแบบเกิดการแยกชั้นของน้ำมัน (oil separation)

การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาอิมัลชัน ส่งผลโดยตรงต่อความคงตัวของอิมัลชันทดสอบทั้งหมด เนื่องจาก การเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระแก่ระบบ ส่งผลให้อัตราการเคลื่อนที่ของโมเลกุลภายในระบบเพิ่มมากขึ้น ทำให้หยดนํ้ามันมีแนวโน้มรวมตัวกันมากขึ้น การเสียสภาพจึงเกิดได้เร็วขึ้น (Frankel, 1993; Guzey และ McClements, 2006) นอกเหนือจากนี้ยังมีอิทธิพลร่วมของการเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบอิมัลชัน ที่ทำให้ ζ -potential เปลี่ยนแปลงไป ดังนั้น การเสียสภาพจึงเกิดขึ้นได้รวดเร็วกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิอื่นๆ อย่างไรก็ดี เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของอิมัลชันทั้งหมดพบว่า การเติมสารสกัดทะเลที่มีความเข้มข้นต่ำ (300 พีพีเอ็ม) ทำให้อิมัลชันที่ได้มีความคงตัวสูงที่สุด

• อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ไม่ส่งผลต่อความคงตัวและลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ แต่การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอิมัลชัน และอุณหภูมิในการเก็บรักษาอาจส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพได้ โดยในวันที่ 0 อิมัลชันทดสอบทั้งหมดทุกระดับพีเอชไม่มีความแตกต่างกันด้านลักษณะกายภาพ และการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชทั้ง 2 ชนิดก็ไม่ส่งผลต่อสีของผลิตภัณฑ์เช่นกัน เมื่อ

ผ่านการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 32 วัน พบว่า ความคงตัวของอิมัลชันทดสอบก็ยังอยู่ในเกณฑ์ที่ดีกว่าการเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ มีสีของผลิตภัณฑ์ใกล้เคียงกัน

เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของการเก็บรักษาเป็น 45 องศาเซลเซียส ตรวจพบการเสถียรภาพของอิมัลชันทดสอบในทุกระดับพีเอช (ตารางที่ 4.6) โดยเฉพาะอย่างยิ่งในอิมัลชันที่มีพีเอชต่ำ ตรวจพบการเสถียรภาพมากที่สุด รองลงมาคือ พีเอช 7 ส่วนอิมัลชันที่พีเอช 5.4 พบการเสถียรภาพน้อยที่สุด แสดงว่า ค่าพีเอชของระบบและอุณหภูมิการเก็บรักษามีผลต่อความคงตัวของผลิตภัณฑ์ เนื่องจาก การเพิ่มอุณหภูมิเป็นการเพิ่มพลังงานอิสระให้แก่ระบบ ส่วนค่าพีเอชที่ต่ำลงสามารถเร่งให้เกิดการเสถียรภาพได้รวดเร็วขึ้น โดยอาจเร่งการไฮโดรไลซิสของไขมัน และทำให้โครงสร้างและคุณสมบัติของอิมัลชันไฟเออร์เปลี่ยนแปลงไป เป็นต้น เมื่อปัจจัยทั้งสองประกอบกันจึงทำให้อิมัลชันที่มีพีเอชต่ำเกิดการเสถียรภาพมากกว่าที่พีเอชอื่นๆ เมื่อพิจารณาลักษณะการเสถียรภาพที่ตรวจพบในอิมัลชันทดสอบ พบว่ามี 3 ลักษณะใหญ่ๆ ได้แก่ oiling off, flocculation และ coalescence อีกทั้งยังพบการแยกชั้นของน้ำมันในอิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็มที่พีเอช 3 อีกด้วย

ตารางที่ 4.6 ความคงตัวของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ภายหลังจากเก็บรักษานาน 32 วัน

	pH	ตัวอย่าง*	ppm	ระยะเวลาเก็บรักษา(วัน)								
				0	4	8	12	16	20	24	28	32
อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส				ตัวอย่างทุกชนิดไม่พบการเสถียรภาพ								
อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส				ตัวอย่างทุกชนิดไม่พบการเสถียรภาพ								
อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส	3	Control		-	-	-	-	-	-	-	-	C
		BHT	100	-	-	-	-	-	-	F	C	C
		TA	300	-	-	-	-	-	-	-	O	C
			500	-	-	-	-	-	-	O	O	C
		PP	250	-	-	-	-	-	C	C	C	S
			500	-	-	-	-	-	-	C	C	C
	5	Control		-	-	-	-	-	-	-	-	C
		BHT	100	-	-	-	-	-	-	-	-	O
		TA	300	-	-	-	-	-	-	O	F	C
			500	-	-	-	-	-	-	-	O	O
		PP	250	-	-	-	-	-	-	-	-	O
			500	-	-	-	-	-	-	O	O	C
	7	Control		-	-	-	-	-	-	-	-	C
		BHT	100	-	-	-	-	-	-	-	-	O
		TA	300	-	-	-	-	-	-	F	O	-
			500	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		PP	250	-	-	-	-	-	-	-	O	O
			500	-	-	-	-	-	-	O	O	O

หมายเหตุ * หมายถึง สารสกัดพืช TA=ทะเล, PP=ผักไผ่, - หมายถึง ไม่พบการเสถียรภาพ

F หมายถึง การเสถียรภาพแบบ flocculation, C หมายถึง การเสถียรภาพแบบ coalescence

O หมายถึง การเสถียรภาพแบบ oiling off , S หมายถึง การเสถียรภาพแบบเกิดการแยกชั้นของน้ำมัน (oil separation)

การเสีสภาพของอิมัลชันในการศึกษาครั้งนี้ตรวจพบในอิมัลชันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเท่านั้น โดยอิมัลชันที่มีพีเอช 3 พบการเสีสภาพแบบผกกลับไม่ได้มากที่สุด และการเติมสารสกัดผักไผ่ทั้งสองความเข้มข้น มีความคงตัวต่ำกว่าอิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเล โดยพบการเสีสภาพแบบ coalescence ตั้งแต่วันที่ 20 ของการเก็บรักษา ในขณะที่การเก็บรักษาอิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลที่เวลาดังกล่าวพบการเสีสภาพแบบ oiling off ซึ่งเป็นการเสีสภาพในเบื้องต้นเพียงเท่านั้น เมื่อพีเอชของระบบอิมัลชันเพิ่มขึ้นเป็น 5.4 และ 7 อิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ยังคงตรวจพบการเสีสภาพสูงกว่าการเติมสารสกัดทะเลเช่นเดียวกับที่พบในพีเอช 3 แสดงว่า สารสกัดทะเลมีความเหมาะสมต่อระบบอิมัลชันมากกว่า เนื่องจากสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในพีเอชที่มีช่วงกว้างกว่าสารสกัดผักไผ่ ส่วนการเสีสภาพของอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส พบว่า อิมัลชันที่เติม BHT และอิมัลชันควบคุม พบการเสีสภาพในช่วงสุดท้ายของการเก็บรักษา คือ วันที่ 24 และ 32 ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบการเสีสภาพน้อยกว่าอิมัลชันที่เติมสารสกัดพีชที่พีเอชเดียวกัน จึงเป็นไปได้ว่า ค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงไปอาจส่งผลบางประการต่อโครงสร้างขององค์ประกอบในสารสกัดพีช ทำให้เกิดการแยกตัวออกจากระบบอิมัลชัน นอกจากนี้ยังพบว่า อิมัลชันเติม BHT 100 พีพีเอ็มที่พีเอช 3 มีการเสีสภาพมากกว่าที่พีเอชอื่นๆ แสดงว่า การเตรียมอิมัลชันที่พีเอชดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับความคงตัวของระบบโดยตรง อย่างไรก็ตาม สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้น มีความเหมาะสมที่สุดต่อลักษณะทางกายภาพของอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ

4.3.2 ผลของพีเอชที่มีต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันที่เก็บรักษาที่ 35 องศาเซลเซียส

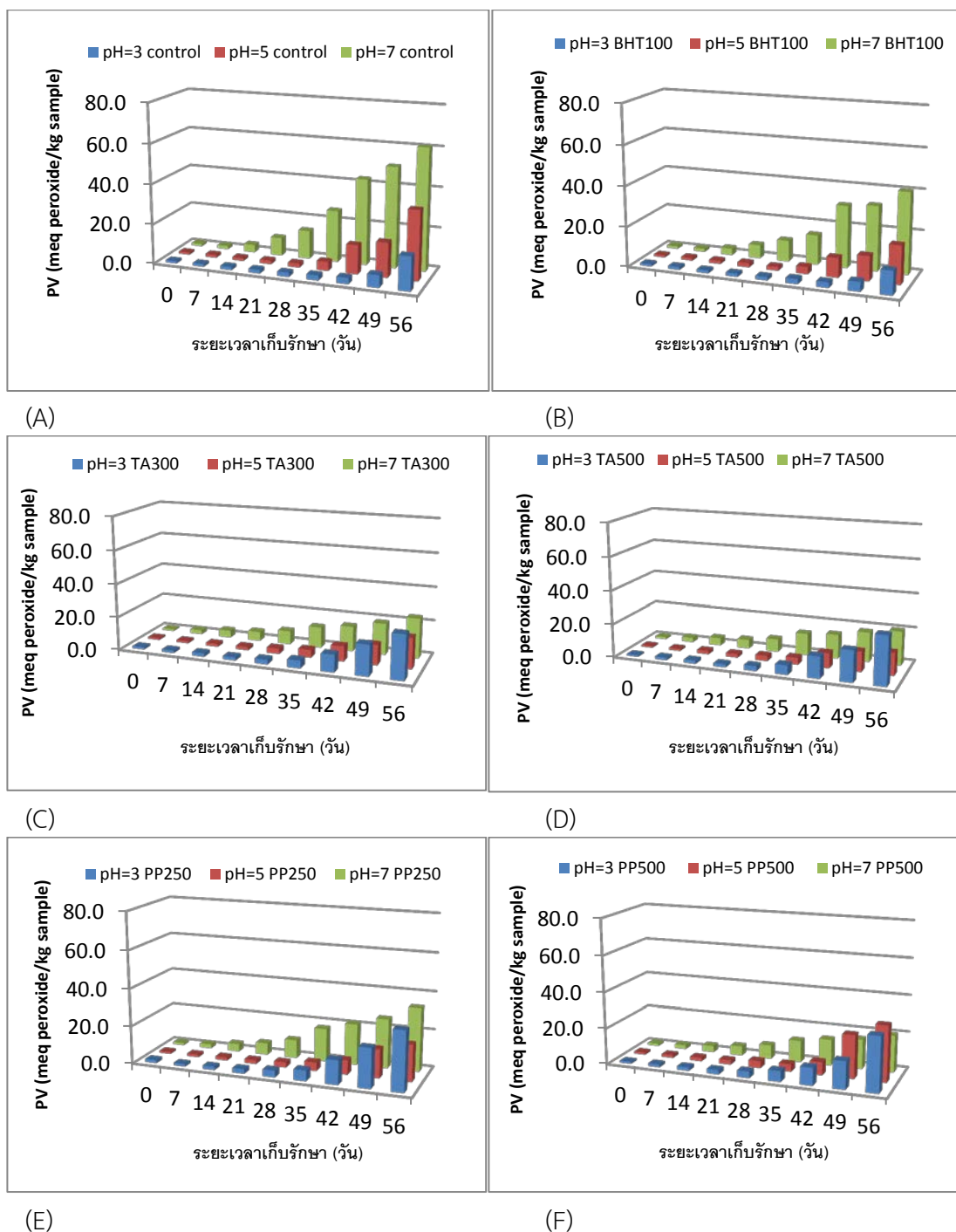
การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอิมัลชันทดสอบ(มีค่าตั้งแต่ 3, 5.4 และ 7) ทำให้ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเปลี่ยนแปลงตามไปด้วย ทั้งในกลุ่มของผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิ (ค่าเปอร์ออกไซด์, PV) และขั้นทุติยภูมิ (ค่า TBARS และค่า p-AV) ตลอดจน ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (ค่า Totox V) มีรายละเอียด ดังนี้

- **ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value, PV)**

การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) การวัดปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นปฐมภูมิของการเกิดออกซิเดชันของไขมัน

- **อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์**

ผลการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงพีเอชจากต่ำไปสูง (3 เป็น 7) ในอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด (ไม่เติม BHT และ เติม BHT 100 พีพีเอ็ม) ทำให้ค่า PV เพิ่มขึ้นตามไปด้วย (ภาพที่ 4.9A และ 4.9B) โดยอิมัลชันควบคุมที่พีเอช 3, 5.4 และ 7 มีค่า PV อยู่เพิ่มขึ้นเป็น 17, 35 และ 61 meq peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง ตามลำดับ ส่วนการเติม BHT 100 พีพีเอ็มในอิมัลชัน แม้ว่าทำให้ค่า PV เพิ่มขึ้นตามพีเอชที่เพิ่มขึ้น แต่สามารถค่า PV ในตัวอย่างอิมัลชันได้ โดยอิมัลชันที่พีเอช 3, 5.4 และ 7 มีค่า PV เพิ่มขึ้นดังนี้ 12, 19 และ 40 meq peroxide ต่อ กิโลกรัมตัวอย่าง แสดงว่า BHT มีฤทธิ์ยับยั้งการหืนในอิมัลชันได้ทั้งที่พีเอชต่างๆ การเพิ่มขึ้นของค่า PV เมื่อเพิ่มพีเอชนี้ เป็นผลจากประจุที่ผิวหน้าของหยดน้ำมัน โดยที่พีเอชต่ำมีประจุเป็นบวก จึงเกิดแรงผลักระหว่างหยดน้ำมันกับสารโปร-ออกซิแดนท์ จึงทำให้อัตราเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันต่ำกว่าที่พีเอชสูง (Horn และ คณะ, 2011) ในขณะเดียวกันที่พีเอชต่ำ ยังสามารถยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันผ่านกลไกการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลเปอร์ออกซิลและอัลคอกซิลได้อีกด้วย (Antolovich และ คณะ, 2001)



ภาพที่ 4.9 ค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

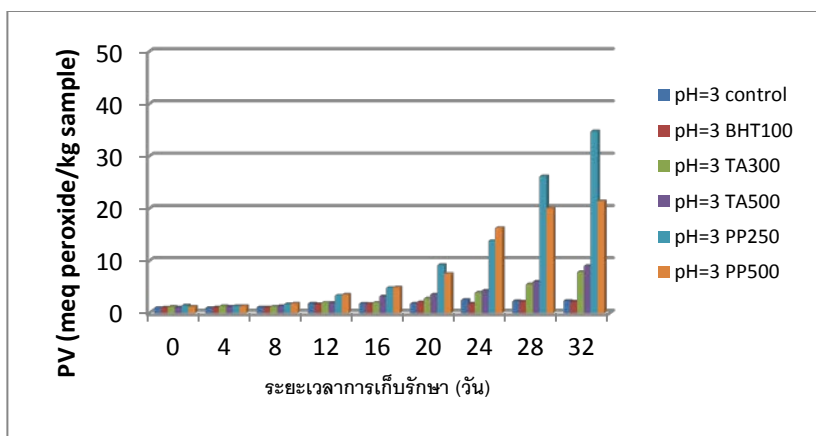
หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้งสองชนิด ไม่พบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนของค่า PV ที่วิเคราะห์ได้ โดยการเติมสารสกัดทะเลที่ 300 และ 500 พีพีเอ็ม ในอิมัลชันที่มีพีเอช 3 และ 5.4 นั้นมีค่า PV ใกล้เคียงกันในช่วง 42 วันแรกของการเก็บรักษา และมีค่าน้อยกว่า 10 meq peroxide ต่อกรัมตัวอย่าง ส่วนอิมัลชันที่มีพีเอช 7 มีค่า PV เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนตั้งแต่วันที่ 14 และเมื่อพิจารณาตลอดอายุการเก็บรักษา 56 วัน กลับพบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้นในอิมัลชันพีเอช 5.4 สามารถยับยั้งการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ดีที่สุด รองลงมา คือ ที่พีเอช 7 และพีเอช 3 ดังภาพที่ 4.9 (C) และ(D) ส่วนการใช้สารสกัดผักในอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ พบว่า ความเข้มข้นที่ใช้ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกไซด์อย่างชัดเจน (ภาพที่ 4.9E และ 4.9F) โดยพบว่า ที่ความเข้มข้นระดับต่ำอิมัลชันที่พีเอช 5.4 มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยมีค่า PV สูงสุดเท่ากับ 19 meq peroxide ต่อกรัมตัวอย่าง แต่การใช้สารสกัดผักที่ความเข้มข้นระดับสูงมีประสิทธิภาพสูงที่สุดในอิมัลชันที่พีเอช 7 โดยมีค่า PV สูงสุดเท่ากับ 20 meq peroxide ต่อกรัมตัวอย่าง ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา การใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิดในการต้านออกซิเดชันของอิมัลชันที่พีเอช 3 นั้น พบว่ามีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจาก สารประกอบฟีนอลิกในพืชมีโครงสร้างวงแหวนที่สามารถคีเลตโลหะได้ ซึ่งมีศักยภาพในการรีดิวซ์ที่สูงและทำให้สารประกอบฟีนอลิกมีสมบัติเป็นโปร-ออกซิแดนท์ได้ (Bros และคณะ, 1995) นอกจากนี้ ปัจจัยอื่นๆ เช่น ความเป็นขั้วของสารต้านออกซิเดชัน ความสามารถในการกระจายตัวเฟสทั้งสอง รวมทั้งปริมาณที่ใช้ก็ล้วนมีผลต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน (Maqsood และ Benjakul, 2010)

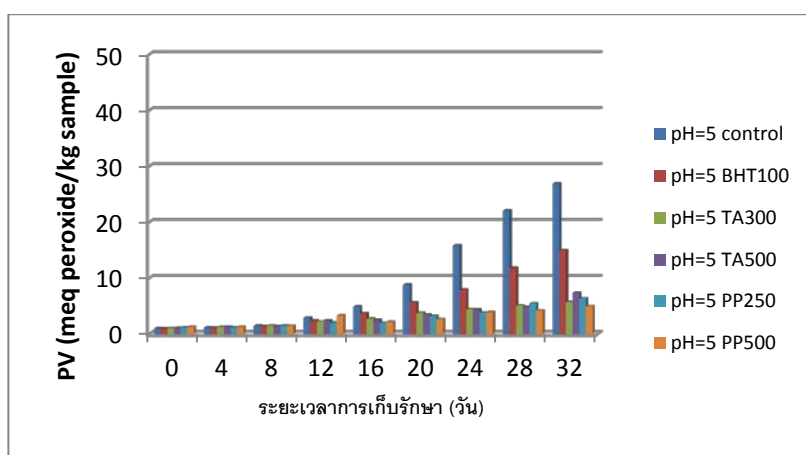
ผลการเปรียบเทียบกันระหว่างการใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิด พบว่า สารสกัดทะเลทั้งสองระดับความเข้มข้น (300 และ 500 พีพีเอ็ม) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิด PV หรือไฮโดรเปอร์ออกไซด์สูงกว่าสารสกัดผัก อีกทั้งการเติมสารสกัดทะเลในอิมัลชันพีเอช 5.4 และ 7 ยังมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT แสดงว่า สารสกัดทะเลมีประสิทธิภาพที่ดีในการยับยั้งการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์อยู่ช่วงพีเอช 5.4-7

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

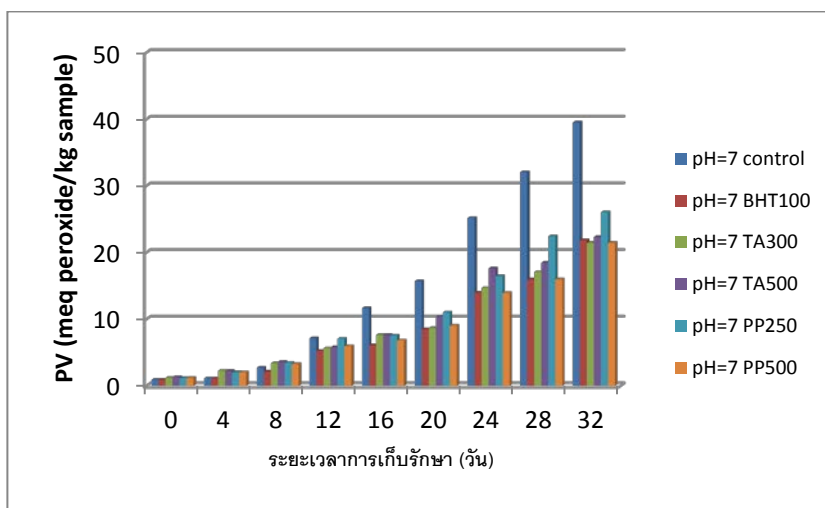
อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชที่พีเอช 3 มีค่า PV สูงกว่าอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด โดยการเติมสารสกัดผักมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการใช้สารสกัดทะเล ประมาณ 3 เท่า แต่การเพิ่มปริมาณสารสกัดผักจาก 250 เป็น 500 พีพีเอ็ม ก็ส่งผลให้ประสิทธิภาพเพิ่มสูงขึ้น ในทางตรงข้าม การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดทะเลที่ 300 เป็น 500 พีพีเอ็ม ไม่มีความแตกต่าง (ภาพที่ 4.10A) ในขณะที่อิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด (ไม่เติม และ เติม BHT 100 พีพีเอ็ม) มีค่า PV คงที่ตลอดการเก็บรักษา 32 วัน หรือมีค่าต่ำกว่า 2.5 meq peroxide แสดงว่า ระบบที่มีพีเอชต่ำส่งผลต่ออิมัลชันต่างๆ แตกต่างกัน โดยจะช่วยชะลอการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด แต่จะเร่งการเกิดออกซิเดชันในอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืช ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการที่ไฮโดรเจนอะตอมในระบบ สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันผ่านกลไกการเคลื่อนย้ายไฮโดรเจนอะตอมได้ แต่ในขณะเดียวกัน ไฮโดรเจนอะตอมดังกล่าวอาจเร่งให้เกิดการสลายตัวขององค์ประกอบในสารสกัดพืช โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ไอออนของโลหะต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบในพืชจึงเร่งให้เกิดการออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.10 ค่า PV ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ

35 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ คือ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และ พีเอช 7 (C)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม, TA500=สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

เมื่อพีเอชเพิ่มสูงขึ้นเป็น 5.4 และ 7 พบว่า การเปลี่ยนแปลงค่า PV แตกต่างจากที่พีเอช 3 อย่างสิ้นเชิง โดยที่พีเอช 5.4 อิมัลชันควบคุมมีค่า PV เพิ่มขึ้นในวันที่ 16 และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆตลอดอายุการเก็บรักษา ส่วนการเติม BHT 100 พีพีเอ็ม และสารสกัดพืชทั้งสองชนิดสามารถยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันได้เป็นอย่างดี ส่วนที่พีเอช 7 นั้นพบว่า อิมัลชันควบคุมเกิดการออกซิเดชันของไขมันสูงที่สุด รองลงมา คือ อิมัลชันเติม BHT แต่การเติมสารสกัดทะเลและผักไผ่ยังคงมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีกว่าการเติม BHT คล้ายคลึงกับที่พบในพีเอช 5.4 (ภาพที่ 4.10B และ 4.10C)

เมื่อพิจารณาความเข้มข้นที่ใช้ของสารสกัดพืชทั้งสองชนิด พบว่า ประสิทธิภาพในการต้านการหืนขึ้นอยู่กับชนิดของพืชและความเหมาะสมของระบบที่ใช้ โดยพืชต่างชนิดกันก็มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน เช่น การเติมสารสกัดทะเลเข้มข้น 300 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับความเข้มข้น 500 พีพีเอ็มในทุกพีเอชทดสอบ ในขณะที่ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม จะมีประสิทธิภาพดีกว่า 250 พีพีเอ็ม และเมื่อพีเอชของระบบลดลงเท่ากับ 3 สารสกัดผักไผ่แสดงสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนซ์ เร่งการสลายตัวของไขมันให้กลายเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ด้วยเหตุนี้ การนำสารสกัดพืชมาประยุกต์ในระบบอิมัลชันใช้ย่อมต้องพิจารณาถึงปัจจัยต่างๆเหล่านี้ด้วย โดยสารสกัดทะเลที่ความเข้มข้นทั้งสอง (300 และ 500 พีพีเอ็ม) มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ดีกว่าสารสกัดผักไผ่และสามารถใช้ได้ในทุกระดับพีเอช

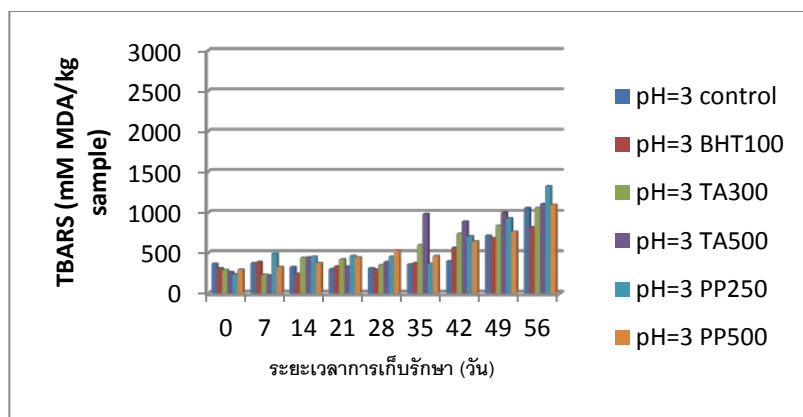
• ค่า TBARS

การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS เป็นการหาปริมาณผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation products) ที่ได้จากการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ในกลุ่มของอัลดีไฮด์ และ คีโตน ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในผลิตภัณฑ์

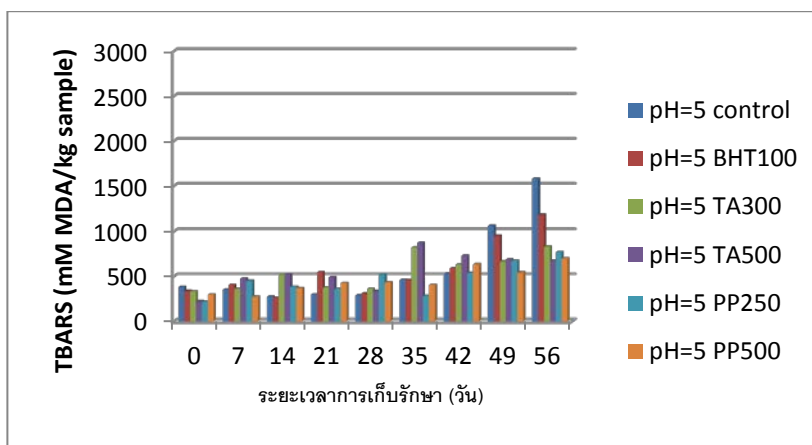
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

การเปลี่ยนแปลงพีเอชตั้งแต่ 3 ถึง 7 ส่งผลให้ค่า TBARS ของตัวอย่างควบคุมทั้งสองเพิ่มขึ้นคล้ายคลึงกับที่พบในค่า PV ดังภาพที่ 4.11A- 4.11C โดยอิมัลชันที่พีเอช 7 ในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา มีค่า TBARS สูงที่สุด คือ 2,482 และ 1,734 มิลลิโมลาร์มาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง ในตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม ตามลำดับ

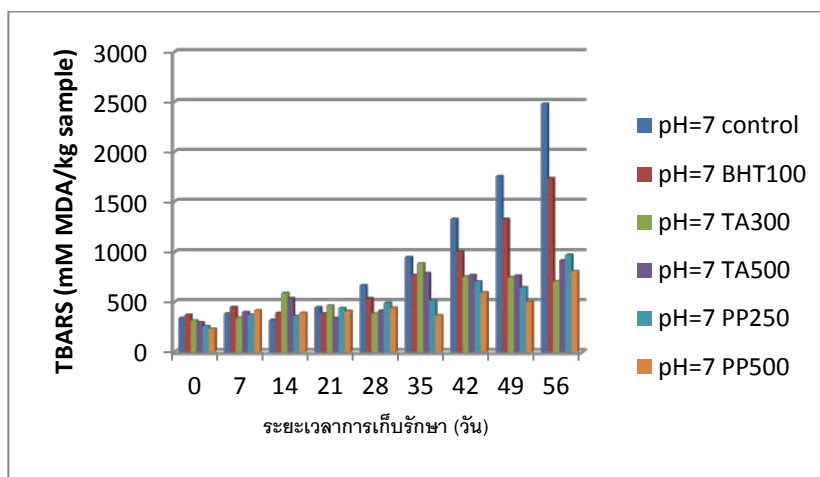
ผลการทดลองในภาพที่ 4.11 แสดงว่า การเพิ่มพีเอชของตัวอย่างอิมัลชัน สามารถเร่งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้ รวมถึงการใช้ BHT ในอิมัลชันยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีทั้งในระบบที่มีพีเอชต่ำและมีพีเอชสูง สำหรับสารสกัดพืชทั้งสองชนิดนั้น มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนในอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ แตกต่างกัน โดยการใช้สารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันที่พีเอช 3 มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ส่วนที่พีเอช 5.4 สารสกัดทั้งสองจะมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รองลงมาคือ ที่พีเอช 7 (ภาพที่ 4.11A-4.11C) อย่างไรก็ตาม การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชัน มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม ประมาณ 1.4-2 เท่า ยกเว้นระบบที่มีพีเอชเท่ากับ 3 ที่เกิดสมบัติโปร-ออกซิแดนซ์ จึงเร่งให้เกิดออกซิเดชันของไขมันสูงขึ้นอีกด้วย (Bros และคณะ, 1995)



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.11 ค่า TBARS ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่พีเอชต่างๆ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และพีเอช 7 (C)

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดหะโล่ 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดหะโล่ 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

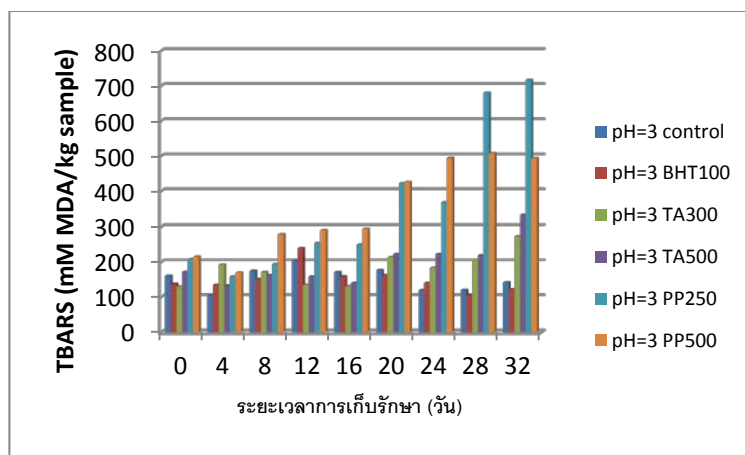
เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ใช้ทดสอบ พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดผักไผ่จาก 250 เป็น 500 พีพีเอ็ม ส่งผลให้มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย โดยค่า TBARS ที่วิเคราะห์ได้จากอิมัลชันทดสอบทั้งสามพีเอชนั้น มีค่าลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา แต่ไม่พบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในอิมัลชันที่เติมสารสกัดทะเลทุกพีเอช แสดงว่า ประสิทธิภาพในการต้านการหืนของสารสกัดพืชเป็นลักษณะเฉพาะตัวของพืชแต่ละชนิด อีกทั้งปัจจัยด้านต่างๆ ทั้งที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบในพืช กลไกการเข้าปฏิกิริยา ระบบทดสอบ รวมไปถึงวิธีวิเคราะห์ที่เลือกใช้ ก็มีบทบาทต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันเช่นกัน

ผลการทดลองพบว่า สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็มและสารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม มีฤทธิ์ยับยั้งการสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์สูงที่สุดที่พีเอช 5.4 และ 7 อีกทั้งการใช้สารสกัดพืชทั้งสองยังมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า BHT

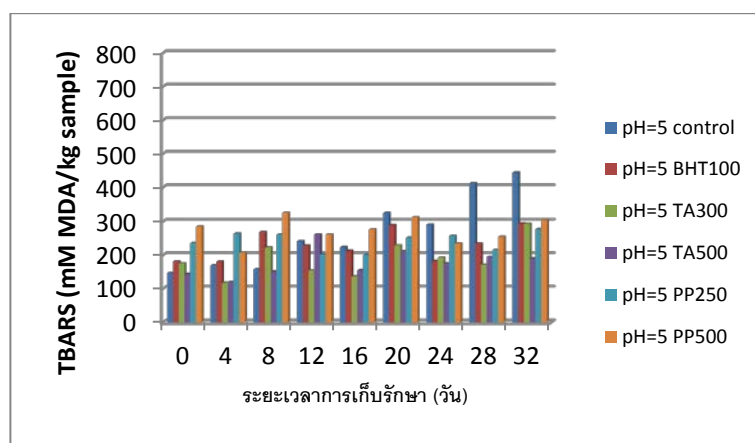
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การประเมินความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS ของอิมัลชันที่พีเอชต่างๆ พบว่า ค่าพีเอชแต่ละระดับส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ที่แตกต่างกัน โดยที่พีเอช 3 อิมัลเติมสารสกัดพืชมีค่า TBARS สูงกว่าอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด ซึ่งอิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็มมีค่า TBARS สูงที่สุด รองลงมาคือ อิมัลชันที่เติมสารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม ส่วนอิมัลชันควบคุมมีค่า TBARS ต่ำกว่าอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชในทุกวันทดสอบ (ภาพที่ 4.12A) เมื่อพีเอชของระบบเพิ่มเป็น 5.4 (ภาพที่ 4.12B) พบว่า อิมัลชันควบคุมมีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทุกความเข้มข้นมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนดีกว่าอิมัลชันควบคุม แต่ทิศทางของการเปลี่ยนแปลงค่า TBARS ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา仍未มีแนวโน้มที่ชัดเจน ส่วนอิมัลชันที่พีเอช 7 (ภาพที่ 4.12C) พบว่า การเพิ่มขึ้นของพีเอชไม่ส่งผลต่อการออกซิเดชันของอิมัลชันควบคุม เนื่องจาก ค่า TBARS ที่วิเคราะห์ได้มีค่าใกล้เคียงกับที่พีเอช 5.4 แต่พีเอชที่เพิ่มขึ้นนี้กลับส่งผลให้สารสกัดพืชมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนลดลง รวมทั้งไม่พบความแตกต่างของการใช้สารสกัดพืชที่ความเข้มข้นต่างกันอีกด้วย

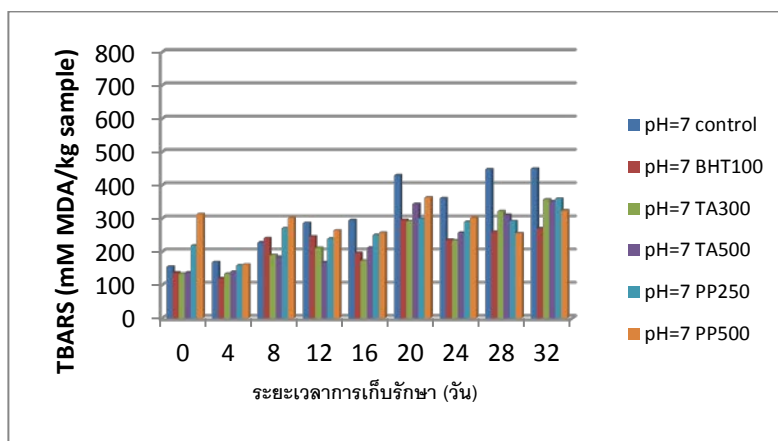
ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีนี้ของสารสกัดพืชทั้ง 2 ชนิด พบว่า การใช้สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้นมีประสิทธิภาพดีกว่าผักไผ่ในทุกพีเอชทดสอบ แต่การใช้สารสกัดผักไผ่มีความได้เปรียบเมื่อพีเอชของระบบเพิ่มจาก 5.4 เป็น 7 เนื่องจาก มีค่า TBARS ที่พีเอชทั้งสองใกล้เคียงกันตลอดอายุการเก็บรักษา แสดงว่า พีเอชที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อองค์ประกอบในผักไผ่ที่อาจก่อให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน หรือลดความสามารถในการต้านออกซิเดชันของพืชลง อย่างไรก็ตาม การเติมสารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็มลงในอิมัลชันที่พีเอช 5.4 สามารถต้านออกซิเดชันได้สูงที่สุด และมีประสิทธิภาพดีกว่าการเติม BHT 100 พีพีเอ็ม



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.12 ค่า TBARS ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ คือ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และ พีเอช 7 (C)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม, TA500=สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

- ค่า p-Anisidine (p-Anisidine Value, p-AV)

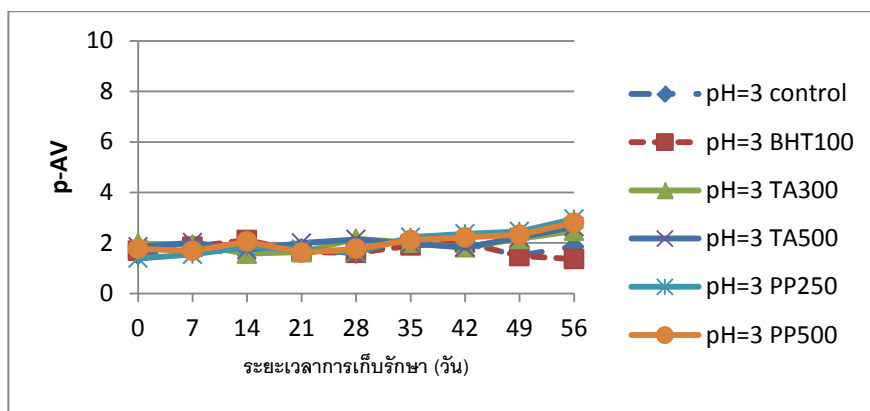
การวิเคราะห์ค่า p-Anisidine (p-AV) เป็นการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิ (secondary oxidation products) เช่นเดียวกับวิธี TBARS แต่วิธีนี้เป็นวัดปริมาณสารประกอบอัลดีไฮด์ทั้งหมด โดยมีความจำเพาะต่อสารประกอบอัลดีไฮด์กลุ่มที่ไม่ระเหย

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

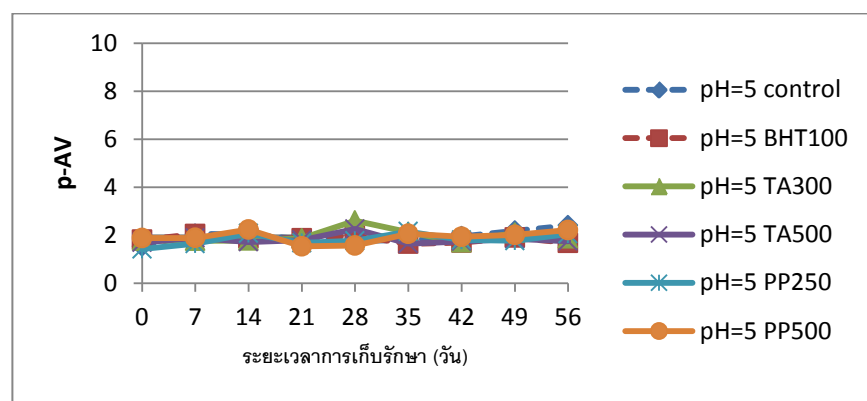
ค่า p-AV ของอิมัลชันทั้งหมดตลอดระยะเวลาเก็บรักษา 56 วัน พบการเปลี่ยนแปลงของค่า p-AV ในอิมัลชันที่มีพีเอชต่างๆ มีความแตกต่างกันน้อยมาก ยกเว้น อิมัลชันทดสอบที่พีเอช 7 ที่พบการเปลี่ยนแปลงอย่างเด่นชัดในวันที่ 42 (ภาพที่ 4.13)

การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันที่พีเอช 3 พบว่า ความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ด้วยวิธี p-AV สอดคล้องผลที่ได้จากวิธีอื่นๆ โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้งสองชนิด ที่ระดับความเข้มข้นที่กำหนด มีค่า p-AV สูงกว่าตัวอย่างควบคุมทั้งสอง ดังภาพที่ 4.13A

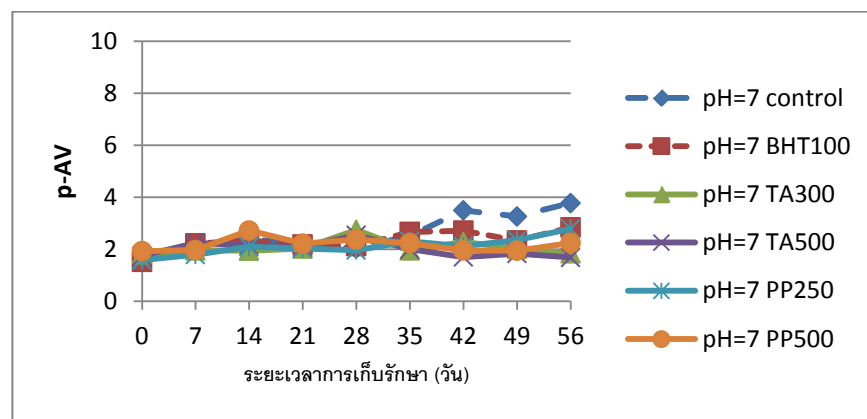
ในขณะที่พีเอช 5.4 ไม่พบความแตกต่างกันของค่า p-AV ที่วิเคราะห์ได้ระหว่างตัวอย่างทดสอบทุกชนิด (ภาพที่ 4.13B) ส่วนที่พีเอช 7 ตรวจพบการเปลี่ยนแปลงของค่า p-AV ของตัวอย่างควบคุม (ไม่เติม BHT และ เติม BHT 100 พีพีเอ็ม) ในระหว่างการเก็บรักษานาน 42 วัน (ภาพที่ 4.13C) ถึงแม้ว่า การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันทดสอบทุกพีเอช ตรวจพบค่า p-AV ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม แต่ก็ยังมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนด้วยวิธีนี้ต่ำกว่าการเติม BHT 100 พีพีเอ็ม ยกเว้นที่อิมัลชันที่พีเอช 7 ที่พบว่า การใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิดเป็นสารต้านออกซิเดชันมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT แสดงให้เห็นว่า การวิเคราะห์ด้วยวิธี p-AV นี้ ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืช แปรผันตามความเข้มข้น(พีพีเอ็ม)และค่าพีเอชของระบบที่ใช้ทดสอบ โดยค่าพีเอชมีอิทธิพลอย่างยิ่งต่อการเร่งปฏิกิริยาสลายตัวของผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิให้เป็นขั้นทุติยภูมิ (Wang และ Wang, 2008) อย่างไรก็ตาม สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้นมีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในระบบอิมัลชันที่พีเอช 5.4 และ 7 มากที่สุด



(A)



(B)



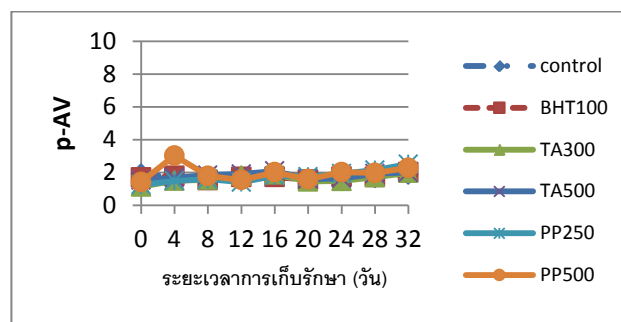
(C)

ภาพที่ 4.13 ค่า p-AV ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่พีเอชต่างๆ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และพีเอช 7 (C)

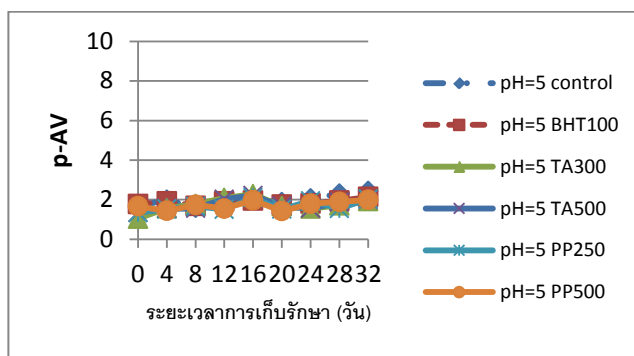
หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม (D) สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

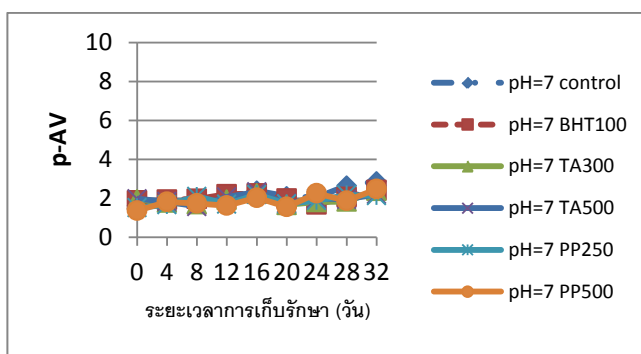
การเปลี่ยนแปลงค่า p-AV ของอิมัลชันทดสอบที่พีเอชต่างๆตลอดอายุการเก็บรักษา 32 วัน พบว่า อิมัลชันที่พีเอชต่างๆ มีค่า p-AV คงที่ แต่เมื่อเพิ่มพีเอช จาก 3 เป็น 5.4 และ 7 ส่งผลให้ค่า p-AV ของตัวอย่างควบคุมเพิ่มสูงขึ้นด้วย แสดงว่า การเพิ่มระดับพีเอชของระบบส่งผลให้การสลายตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์เพิ่มมากขึ้น คล้ายคลึงกับที่พบในวิธี TBARS ดังภาพที่ 4.14



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.14 ค่า p-AV ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ

35 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ คือ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และ พีเอช 7 (C)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม,

TA500=สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

ในทางตรงกันข้าม อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชที่พีเอช 5.4 และ 7 สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ดี มีค่า p-AV ต่ำกว่าอิมัลชันควบคุม รวมทั้งมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็มที่พีเอชทั้งสอง (ภาพที่ 4.14B และ 4.14C) แต่เมื่อพิจารณาถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดพืชที่ใช้ พบว่า การใช้สารสกัดหยาบทั้งสองความเข้มข้นมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน แต่การใช้สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม กลับมีประสิทธิภาพสูงกว่าที่ 500 พีพีเอ็ม แสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพในการต้านการหืนขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ส่วนการเปลี่ยนแปลงของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชที่พีเอช 3 พบว่า พีเอชต่ำเร่งการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืช ทำให้มีค่า p-AV สูงกว่าอิมัลชันควบคุม (ภาพที่ 4.14A)

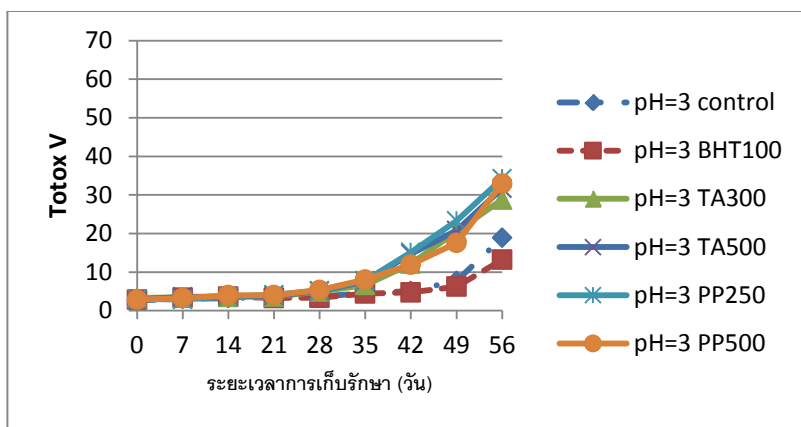
ถึงแม้ว่า การใช้สารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ให้ผลดีในระบบอิมัลชัน แต่การนำไปใช้จำเป็นต้องคำนึงปัจจัยพื้นฐานของระบบทดสอบ เช่น พีเอช ควบคุมไปด้วย เนื่องจากสารสกัดพืชทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพที่พีเอช 5.4 ถึง 7 และการวิเคราะห์ค่า p-AV ยังแสดงให้เห็นว่า ประสิทธิภาพของสารสกัดทั้งสองชนิดที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน

- **ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V)**

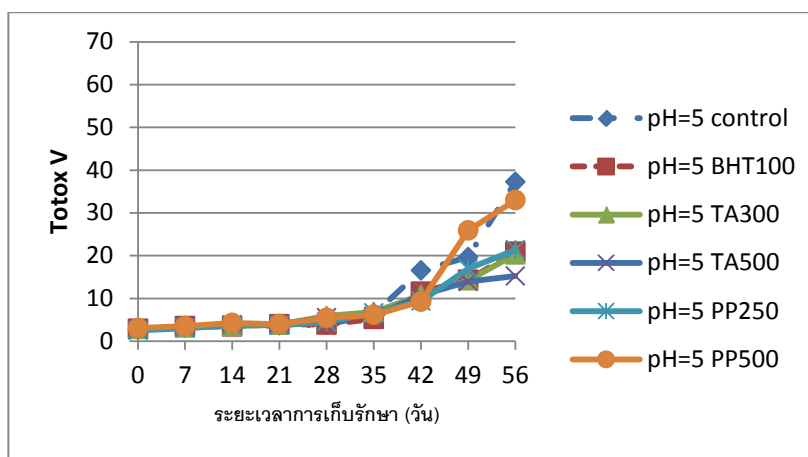
ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox Value, Totox V) คำนวณจากผลรวมของค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) และค่า p-AV สามารถนำมาใช้ประเมินการเสื่อมสภาพของไขมันจากการออกซิเดชัน โดยอิมัลชันที่มีพีเอชต่างกัน ย่อมมีปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดหรือค่า Totox V แตกต่างกันตามไปด้วย

- **อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์**

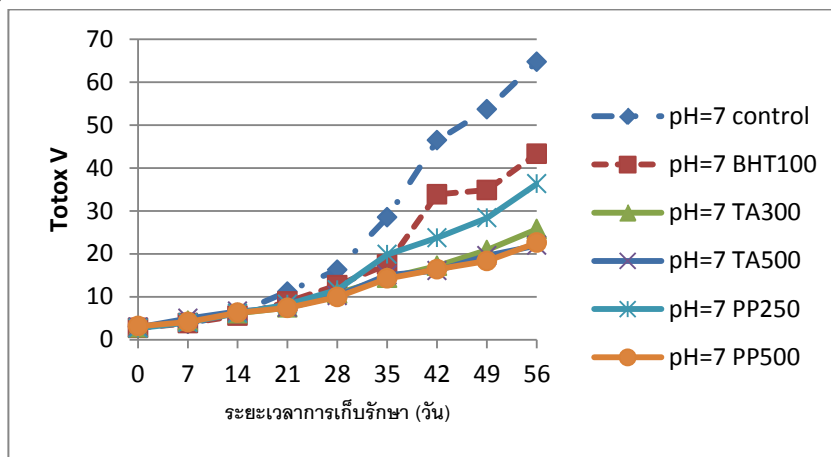
เมื่อพิจารณาตลอดอายุการเก็บรักษา 56 วัน พบว่า ค่า Totox V ของตัวอย่างควบคุมที่พีเอช 3, 5.4 และ 7 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามพีเอชที่เพิ่มขึ้น โดยที่ ตัวอย่างควบคุมที่พีเอช 7 ตรวจพบปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดสูงที่สุด รองลงมาคือ พีเอช 5.4 ส่วนที่พีเอช 3 มีปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดต่ำที่สุด (ภาพที่ 4.15) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พีเอชของระบบทดสอบมีความสัมพันธ์กับการเกิดออกซิเดชันของไขมันดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้ การใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม สามารถต้านการออกซิเดชันในอิมัลชันทดสอบทุกพีเอชได้ดี ในทางตรงกันข้าม การเติมสารสกัดพืชทั้งสองชนิด ส่งผลต่อการออกซิเดชันของไขมันแตกต่างกันไปตามพีเอชของระบบ โดยอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชที่พีเอช 3 มีค่า Totox V สูงที่สุด และมีค่าสูงกว่าตัวอย่างควบคุมภายหลังเก็บรักษาเป็นเวลา 32 วัน แต่เมื่อระบบมีพีเอชเพิ่มขึ้นเป็น 5.4 อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนใกล้เคียงกับ BHT ยกเว้นสารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็มที่มีค่า Totox V เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนในวันที่ 49 ส่วนอิมัลชันที่พีเอช 7 พบว่า มีค่า Totox V สูงกว่าที่พีเอชอื่นๆ แต่สารสกัดพืชทั้งหมดยังคงมีประสิทธิภาพที่ดีในการต้านออกซิเดชัน รวมถึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ BHT



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.15 ปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสที่พีเอชต่างๆ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และพีเอช 7 (C)

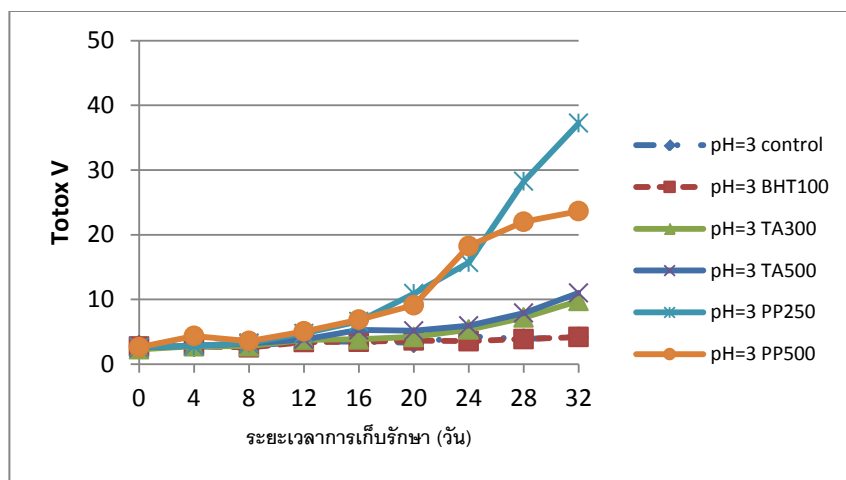
หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า พีเอชมีอิทธิพลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอย่างยิ่ง การเพิ่มพีเอชส่งผลให้การออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย แต่สารสกัดพืชมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันแตกต่างกันไปในแต่ละพีเอชที่ทดสอบ โดยเฉพาะอิมัลชันที่พีเอช 3 สารสกัดพืชมีแนวโน้มแสดงสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนท์ ที่เร่งการปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ส่วนอิมัลชันที่พีเอช 5.4 และ 7 สารสกัดพืชมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม และสารสกัดพืชที่มีความเข้มข้นที่ความเข้มข้นสูง (500 พีพีเอ็ม) มีฤทธิ์ด้านการห็นได้ดีกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ

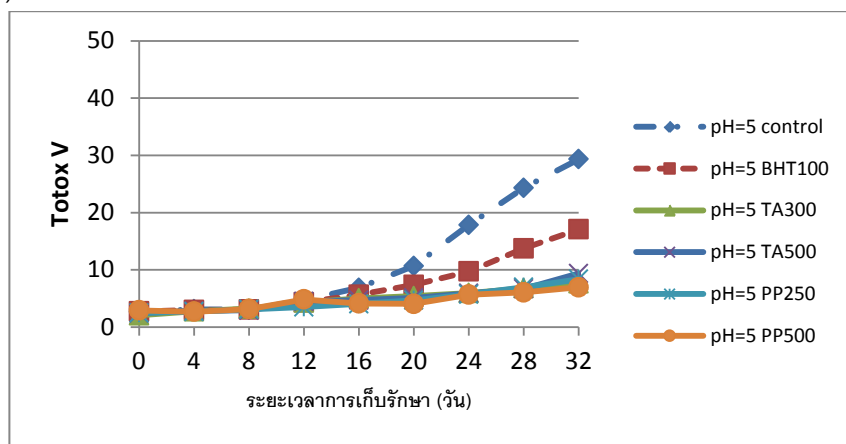
- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า Totox V อย่างเด่นชัด (ภาพที่ 4.16) โดยอิมัลชันที่พีเอช 3 มีความแตกต่างจากอิมัลชันที่พีเอชอื่นๆมากที่สุด โดยพบว่าอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิดมีค่า Totox V ต่ำกว่า 5 ตลอดการเก็บรักษา 32 วัน ส่วนอิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชกลับมีค่า Totox V สูงกว่าอิมัลชันทั้งสองชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การเติมสารสกัดผักไผ่ทั้งสองระดับความเข้มข้นคือ 250 และ 500 พีพีเอ็ม ส่งผลให้ค่า Totox V เพิ่มขึ้นเป็น 37.2 และ 23.6 ตามลำดับ (สูงกว่าอิมัลชันควบคุมประมาณ 7 และ 4 เท่า) ส่วนส่วนสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้น มีค่า Totox V สูงกว่าอิมัลชันควบคุมประมาณ 2 เท่า การที่อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดสูงกว่าอิมัลชันควบคุม เนื่องมาจาก ที่พีเอชต่ำอาจทำให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันเปลี่ยนเป็นการเร่งการเกิดออกซิเดชัน หรือแสดงสมบัติเป็นโปร-ออกซิแดนท์แทน แต่อย่างไรก็ดีพบว่า สารสกัดทะเลมีความทนทานต่ออิมัลชันที่มีพีเอชต่ำได้ดีกว่าสารสกัดผักไผ่

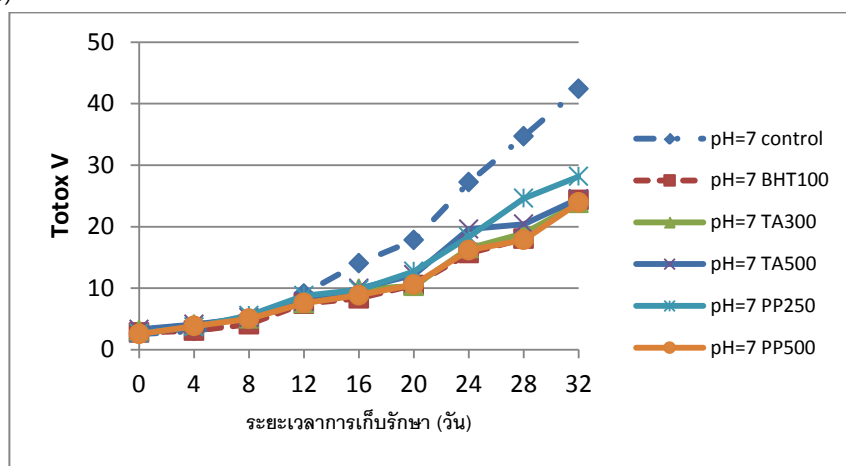
ในขณะที่ อิมัลชันที่พีเอช 5.4 นั้น อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชมีปริมาณออกซิเดชันทั้งหมดต่ำกว่าอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด ซึ่งการเติมสารสกัดทะเลและผักไผ่ที่ 500 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการต้านการห็นดีกว่าการเติมสารสกัดพืชในระดับต่ำ (ภาพที่ 4.16B) นอกจากนี้ การเติมสารสกัดพืชที่พีเอชนี้ มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า BHT 100 พีพีเอ็มประมาณ 1 เท่า ส่วนอิมัลชันที่พีเอช 7 มีแนวโน้มเช่นเดียวกับอิมัลชันที่พีเอช 5.4 โดยสารสกัดพืชที่ความเข้มข้นสูงสามารถต้านการเกิดออกซิเดชันดีกว่าความเข้มข้นต่ำ แต่เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างสารสกัดพืชกับ BHT กลับพบว่า มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 4.16C) แสดงว่า การเพิ่มค่าพีเอชในอิมัลชัน อาจเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ รวมถึง ยังมีผลถึงประสิทธิภาพของสารสกัดพืชที่ใช้อีกด้วย



(A)



(B)



(C)

ภาพที่ 4.16 ค่า Totox V ในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ

35 องศาเซลเซียส ที่พีเอชต่างๆ คือ พีเอช 3 (A) พีเอช 5.4 (B) และ พีเอช 7 (C)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม,

TA500=สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในอิมัลชัน มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ทั้งการสร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (เกิดผลิตภัณฑ์ชั้นปฐมภูมิ) และการสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (เกิดผลิตภัณฑ์ชั้นทุติยภูมิ) โดยพบว่า การเพิ่มพีเอชของอิมัลชัน ทำให้เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเพิ่มขึ้นด้วย แต่พีเอชที่สูงหรือต่ำเกินไปมีผลต่อประสิทธิภาพของสารสกัดพืช เช่น อิมัลชันที่พีเอช 3 ของสารสกัดพืชทุกชนิดแสดงสมบัติโปร-ออกซิแดนซ์ในการเร่งการออกซิเดชันของไขมัน อย่างไรก็ตาม สารสกัดพืชที่มีความเหมาะสมที่สุดในการนำมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในอิมัลชัน คือ สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม ที่มีประสิทธิภาพดีกว่า BHT และทนต่อค่าพีเอชในช่วงกว้าง

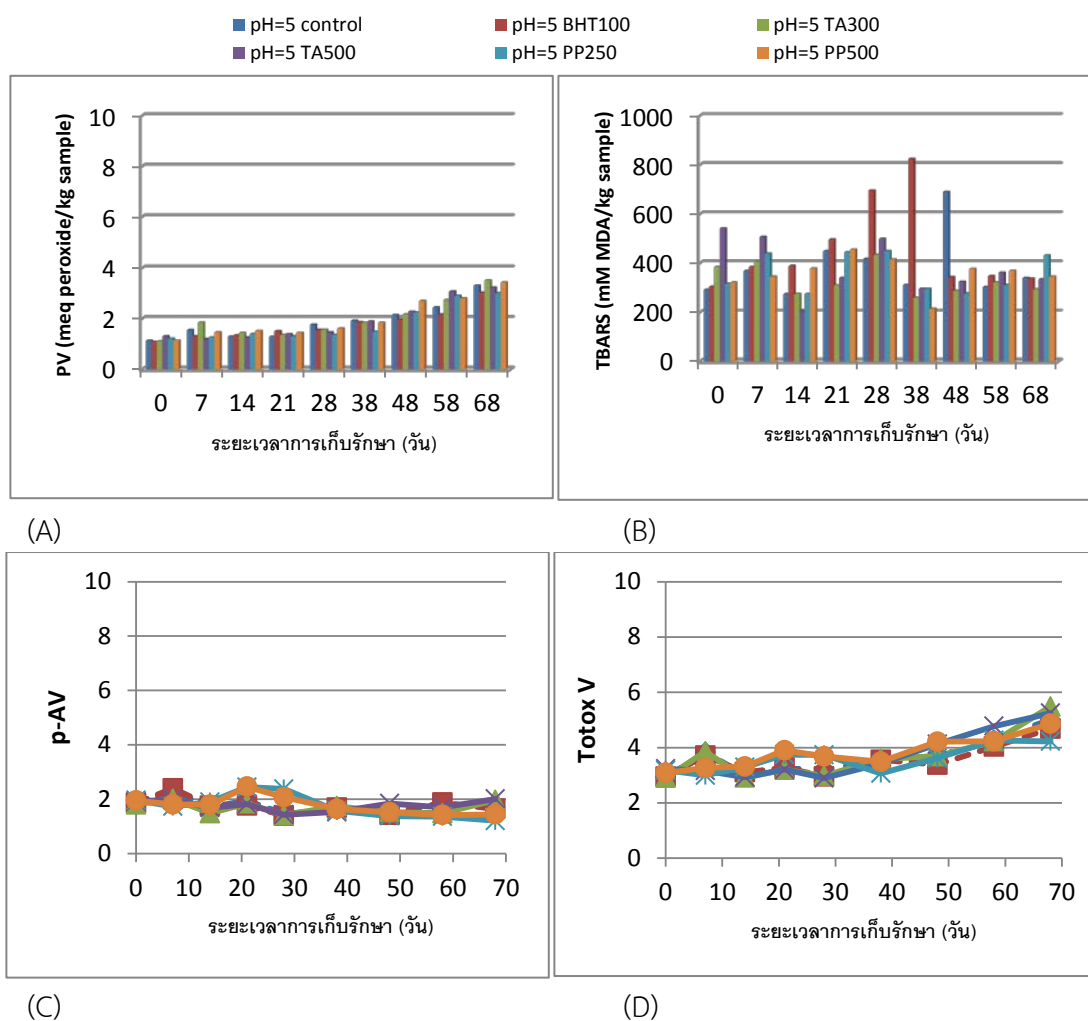
4.3.3 ผลของอุณหภูมิที่มีต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันที่มีพีเอช 5.4

การเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันเปลี่ยนแปลงไป โดยผลการวิเคราะห์ค่าต่างๆ ทั้งค่าเปอร์ออกไซด์ (PV) ค่า TBARS ค่า p-AV และปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V) ของอิมัลชันแบ่งตามอุณหภูมิเก็บรักษา แสดงได้ดังนี้

- อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
 - อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์

ผลการเก็บรักษาอิมัลชัน(พีเอช 5.4) ที่อุณหภูมิต่ำ พบว่า การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในทุกวิธีทดสอบมีค่าในระดับต่ำตลอดอายุการเก็บรักษา 0-68 วัน (ภาพที่ 4.17A-4.17D) โดยเมื่อเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 68 วัน พบว่า ค่า p-AV ที่วิเคราะห์ได้มีการเปลี่ยนแปลงน้อยที่สุด ส่วนค่า PV และ Totox V มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันเมื่อเพิ่มระยะเวลาเก็บรักษา แสดงว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ มีผลต่อการลดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ ในทางตรงข้าม วิธี TBARS กลับไม่พบแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน

นอกจากนี้ การเติมสารสกัดพืชทั้งสองชนิดที่ระดับความเข้มข้นที่กำหนดไว้ ไม่มีผลอย่างชัดเจนต่อการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของอิมัลชันที่เตรียมขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก ที่อุณหภูมิต่ำช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี รวมไปถึงเวลาที่ใช้ในการทดสอบที่อุณหภูมินี้มีค่าน้อยเกินไป การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจึงไม่สมบูรณ์

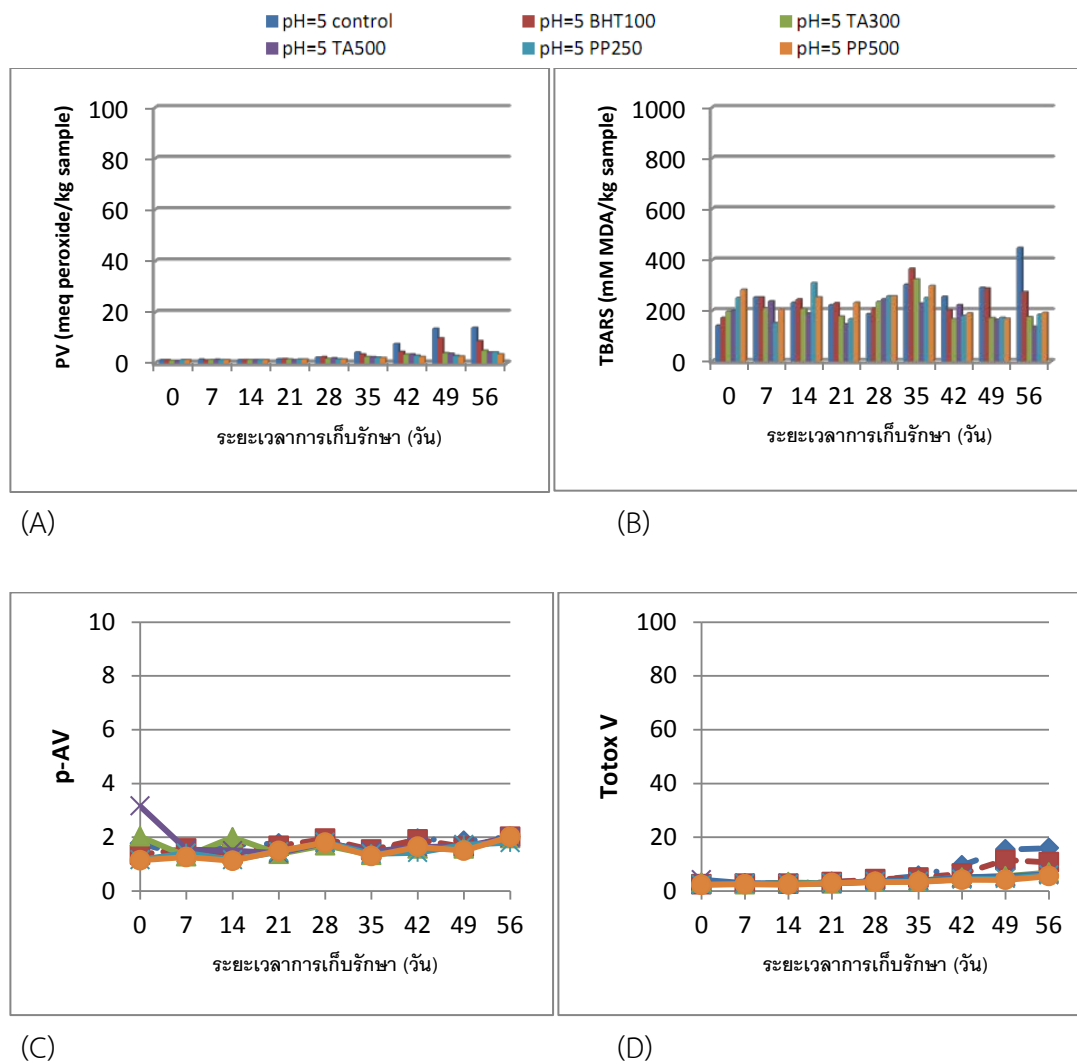


ภาพที่ 4.17 ปฏิกริยาออกซิเดชันในอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส: PV (A), TBARS (B), p-AV (C) และ Totox V (D)

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์

ผลการเก็บรักษาอิมัลชันที่พีเอช 5.4 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า การเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันในทุกวิธีทดสอบมีค่าอยู่ในระดับต่ำตลอดอายุการเก็บรักษานาน 56 วัน แสดงได้ดังภาพที่ 4.18



ภาพที่ 4.18 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่พีเอช 5.4

ณ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส : PV(A), TBARS (B), p-AV (C) และ Totox V (D)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดหะโล่ 300 พีพีเอ็ม,

TA500=สารสกัดหะโล่ 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

การเก็บรักษาอิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิดที่อุณหภูมินี้ พบว่า ค่า PV ค่า TBARS และ ค่า Totox V มีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ยกเว้นค่า p-AV ที่มีแนวโน้มคงที่ตลอด 56 วัน (ภาพที่ 4.18C) ในขณะที่การเติมสารสกัดพืชลงในอิมัลชัน สามารถชะลอการเกิดปฏิกริยาออกซิเดชันของไขมันได้เป็นอย่างดี โดยสารสกัดหะโล่และผักไผ่สามารถยับยั้งการเกิดผลิตภัณฑ์ขั้นปฏิกิริยาได้ตลอดอายุการเก็บรักษา เมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารสกัดพืช คือ สารสกัดหะโล่ 300 และ 500 พีพีเอ็ม หรือ สารสกัดผักไผ่ 250 และ 500 พีพีเอ็ม พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นส่งผลให้ประสิทธิภาพในการต้านการหืนสูงขึ้นไปด้วย

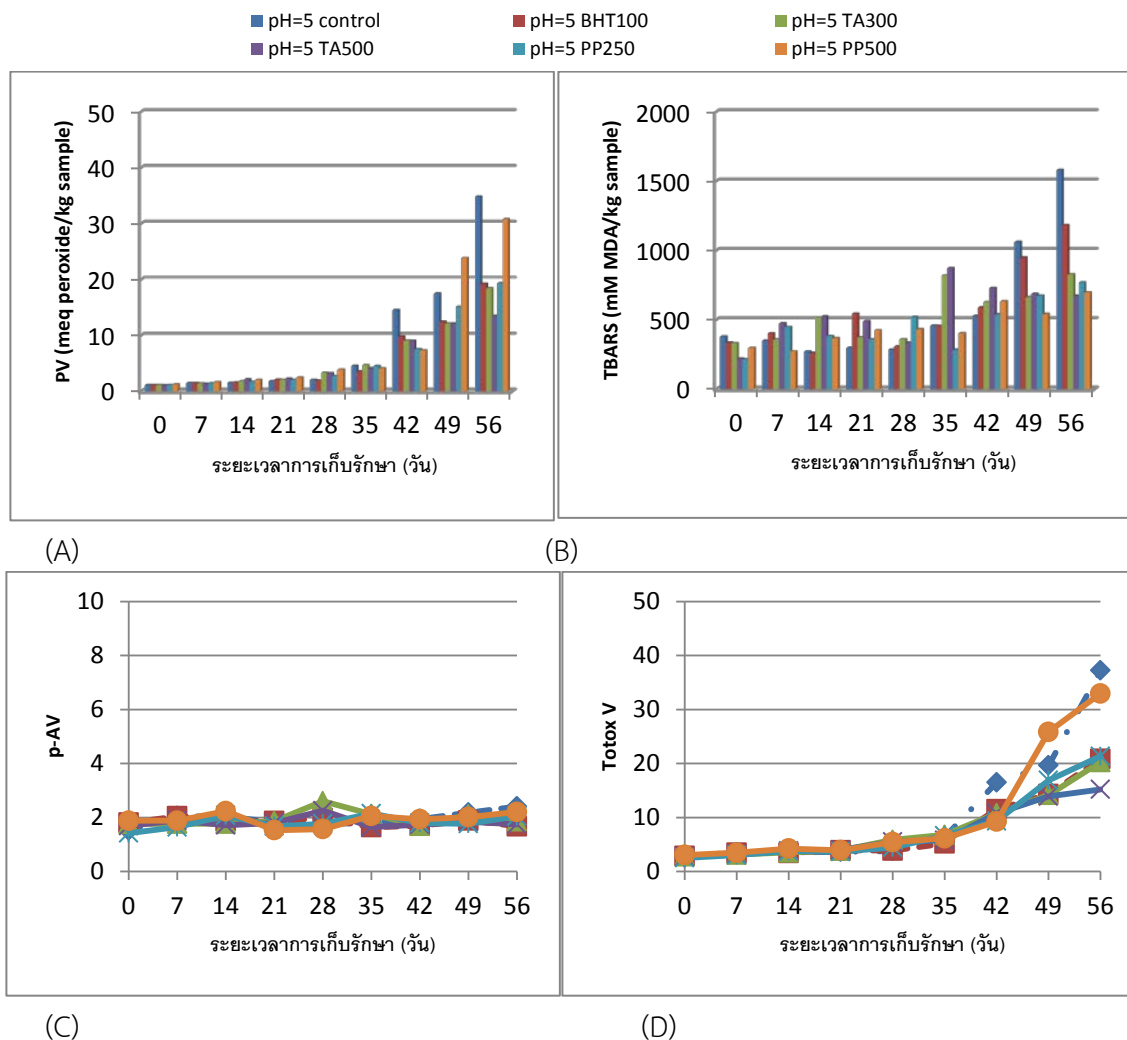
อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาอิมัลชันที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้สารสกัดพืชที่ความเข้มข้นในระดับต่ำก็เพียงพอต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือการหืน เนื่องจากมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับการใช้ที่ระดับสูง รวมถึงสารสกัดพืชแต่ละชนิด ย่อมมีความจำเพาะต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยกลไกที่ต่างกัน ด้วยเหตุนี้ ประสิทธิภาพของสารสกัดทะเลและผักไม้ที่วิเคราะห์ได้จากแต่ละวิธีจึงมีค่าแตกต่างกัน

- **อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส**

- **อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์**

การเปลี่ยนแปลงค่า PV, ค่า TBARS, ค่า p-AV และค่า Totox V ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน (ภาพที่ 4.19) พบว่า อิมัลชันควบคุมทั้งสองชนิด (ไม่เติม BHT และเติม BHT 100 พีพีเอ็ม) เกิดการออกซิเดชันเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น และมีค่าที่ได้วิเคราะห์ได้ทุกวิธีสูงกว่าที่พบในอิมัลชันที่เก็บที่ 25 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงของค่า p-AV ก็ยังมีค่าใกล้เคียงกับที่พบในอุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส) แสดงว่า อุณหภูมิการเก็บรักษาที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลให้มีการสร้างและสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย

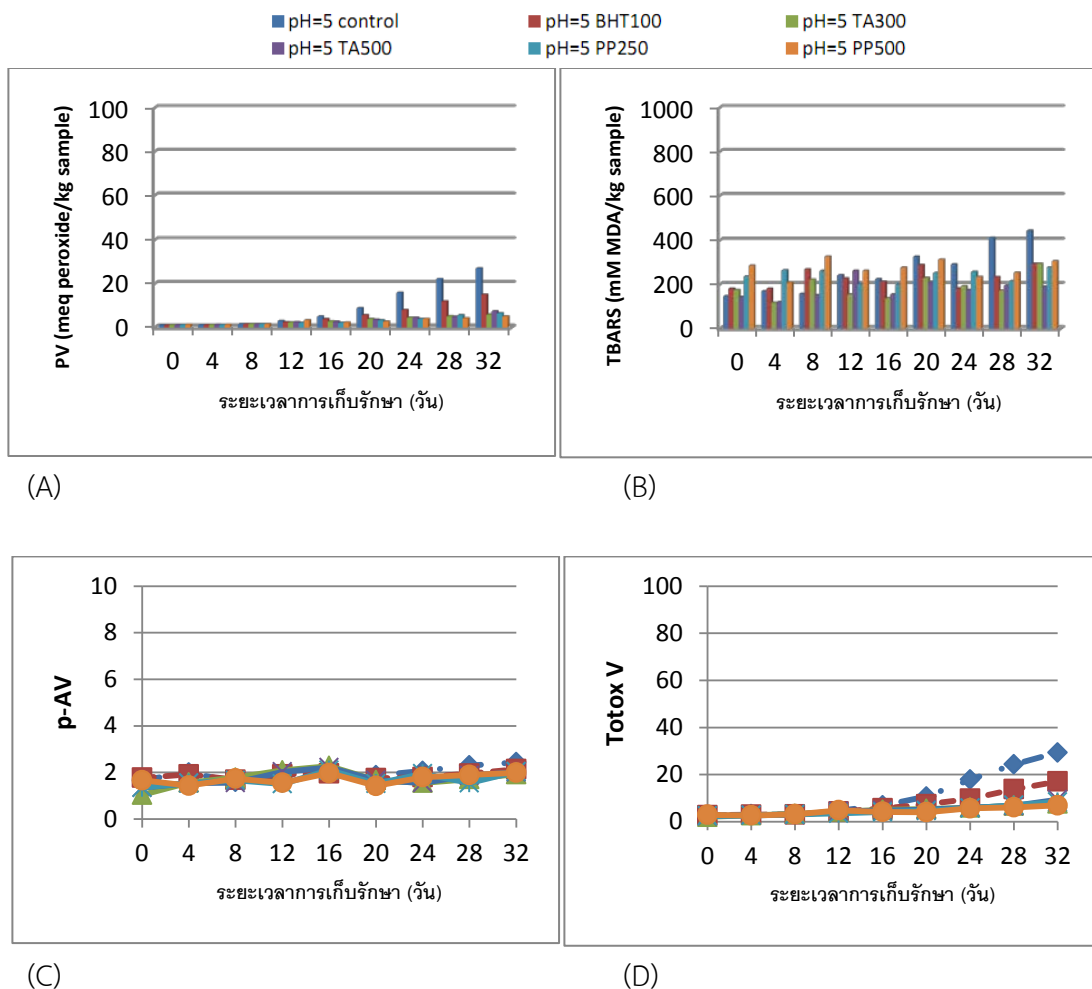
ผลการใช้สารสกัดพืชทะเลและผักไม้เป็นสารต้านออกซิเดชัน พบว่า การใช้สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้น (300 และ 500 พีพีเอ็ม) มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่ดีในทุกวิธีวิเคราะห์ และการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชให้มากขึ้นยังส่งผลให้ประสิทธิภาพสูงขึ้นตามไปด้วย ในขณะที่การใช้สารสกัดผักไม้ทั้งสองความเข้มข้นกลับมีแนวโน้มต่างจากทะเล โดยสารสกัดผักไม้ที่ความเข้มข้นสูง (500 พีพีเอ็ม) มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันต่ำกว่าที่ความเข้มข้นต่ำ ด้วยเหตุนี้ การใช้สารสกัดทะเลทั้งสองความเข้มข้นมีความเหมาะสมต่อระบบอิมัลชันที่เก็บที่อุณหภูมิดังกล่าวมากที่สุด



ภาพที่ 4.19 การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันตัวอย่างอิมัลชัน 90 เปอร์เซนต์ที่พีเอช 5.4 ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส: PV (A), TBARS (B), p-AV (C) และ Totox V (D)
 หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การเพิ่มอุณหภูมิจาก 25 เป็น 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันเพิ่มสูงขึ้น พิจารณาได้จากการเพิ่มขึ้นของค่าที่วิเคราะห์ได้จากวิธีต่างๆ ทั้งค่า PV ค่า TBARS ค่า p-AV และปริมาณออกซิเดชันทั้งหมด (Totox V) โดยการเพิ่มขึ้นค่า PV และค่า Totox V มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนที่สุดตลอดระยะเวลา 32 วัน (ภาพที่ 4.20)



ภาพที่ 4.20 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่พีเอช 5.4

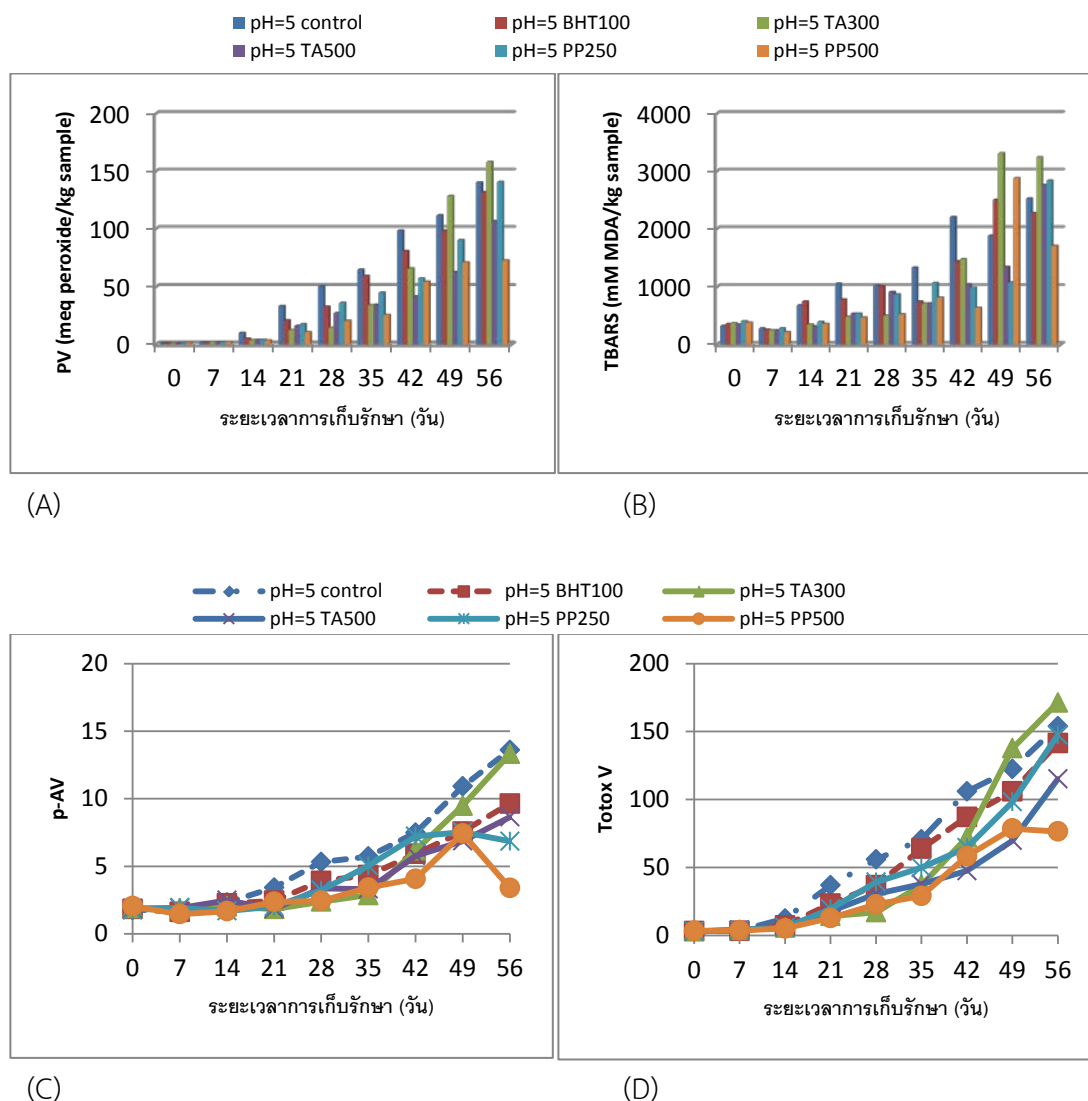
ณ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส : PV (A), TBARS (B), p-AV (C) และ Totox V (D)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดหะโล่ 300 พีพีเอ็ม, TA500=สารสกัดหะโล่ 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

- อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์

การเกิดออกซิเดชันของอิมัลชันมีอัตราเพิ่มมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิอื่นๆ อีกทั้งยังพบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในทุกวิธีวิเคราะห์ ดังแสดงในภาพที่ 4.21



ภาพที่ 4.21 ปฏิกริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซนต์ที่พีเอช 5.4

ณ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส: PV (A), TBARS (B), p-AV (C) และ Totox V (D)

หมายเหตุ ตัวอย่างควบคุม (A), ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม (B), สารสกัดหะเล่ 300 พีพีเอ็ม (C), สารสกัดหะเล่ 500 พีพีเอ็ม (D), สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม (E) และ สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม (F)

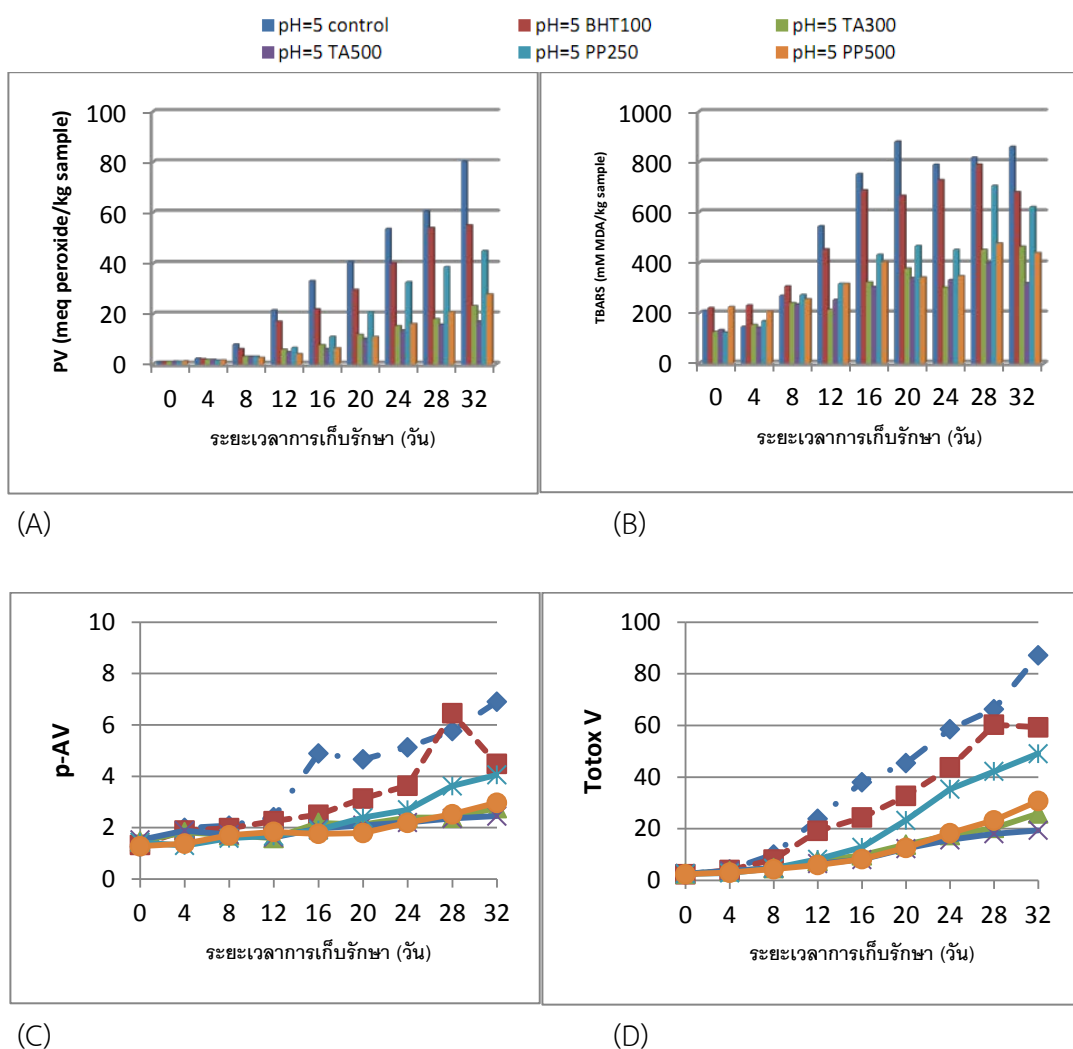
อิมัลชันควบคุมทั้งสองมีค่า PV, ค่า TBARS, ค่า p-AV และค่า Totox V ใกล้เคียงกันตลอดอายุการเก็บรักษา โดยการวิเคราะห์ค่า TBARS พบการลดลงของค่าที่วิเคราะห์ได้ในช่วงท้ายของการเก็บรักษา อาจเนื่องมาจาก การสลายตัวของมาลอนไดอัลดีไฮด์ และสารประกอบไฮโดรคาร์บอนรวมถึงสูญเสียผลิตภัณฑ์ที่ระเหยได้ ซึ่งไม่สามารถวิเคราะห์ด้วยวิธี TBARS ได้ (Fernandez และ คณะ, 1997) อย่างไรก็ตามพบว่า BHT ยังคงมีประสิทธิภาพต้านออกซิเดชันที่ดี แม้ว่าจะนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง การเติมสารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันในอิมัลชันที่อุณหภูมินี้ พบว่า ความเข้มข้นของสารสกัดพืชเป็นปัจจัยสำคัญต่อประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน โดยสารสกัดหะโล่และผักไผ่ที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็มตลอดอายุการเก็บรักษา ส่วนการใช้สารสกัดพืชที่ความเข้มข้นระดับต่ำมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในช่วง 42 วันแรกของการเก็บรักษาเท่านั้น อันเนื่องมาจาก สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดสามารถสลายตัวที่อุณหภูมิสูงได้ ประสิทธิภาพในการต้านการหืนจึงลดลง (Frankel, 1993)

การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษา ส่งผลโดยตรงต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอิมัลชันทดสอบ โดยอุณหภูมิสูงเร่งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงกว่าที่อุณหภูมิต่ำ อีกทั้งยังพบว่าการใช้สารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันในระดับสูง มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนสูงกว่าการใช้ในระดับต่ำ

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

การเพิ่มอุณหภูมิทำให้เกิดการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน ดังเช่น การเปลี่ยนแปลงของค่า PV และค่า Totox V ของอิมัลชันควบคุมตรวจพบความแตกต่างของค่าที่วิเคราะห์ได้ในวันที่ 20 ตามภาพที่ 4.22A และ 4.22D ส่วนที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กลับตรวจพบการเปลี่ยนแปลงในช่วงท้ายของการทดสอบ คือ ตั้งแต่วันที่ 42 เป็นต้นไป (ภาพที่ 4.18A และ 4.18D) ส่วนการเปลี่ยนแปลงค่า p-AV มีแนวโน้มคงที่เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิต่ำ แต่ค่า TBARS กลับไม่มีทิศทางการเปลี่ยนแปลงที่แน่ชัด รวมไปถึง ประสิทธิภาพในการต้านการหืนของ BHT 100 พีพีเอ็มในอิมัลชันก็ลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นด้วยเช่นกัน

อย่างไรก็ตาม การเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็น 35 องศาเซลเซียส ไม่ส่งผลอย่างชัดเจนต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืชทั้งสองชนิด โดยทั้งสารสกัดหะโล่และผักไผ่ยังคงมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับค่าที่วิเคราะห์ที่อุณหภูมิต่ำ (25 องศาเซลเซียส) รวมถึงความเข้มข้นที่ใช้ทั้งสองระดับก็ยังมีประสิทธิภาพใกล้เคียงกันอีกด้วย แสดงให้เห็นว่า สารต้านออกซิเดชันในสารสกัดพืชทั้งสองชนิดมีความทนทานต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิได้ดี โดยมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันสูงกว่า BHT ซึ่งเป็นสารกันหืนที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย สารสกัดหะโล่ 500 พีพีเอ็ม จึงมีความเหมาะสมที่สุด ที่จะนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชันในอิมัลชันระบบนี้



ภาพที่ 4.22 ปฏิริยาออกซิเดชันในตัวอย่างอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ที่พีเอช 5.4

ณ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส: PV (A), TBARS (B), p-AV (C), ค่า Totox V (D)

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม,

TA500=สารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

ผลการทดลองวิเคราะห์การหืนทั้ง 4 วิธี แสดงว่า การเพิ่มอุณหภูมิเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันได้ทั้ง 2 รูปแบบ ทั้งเร่งการออกซิเดชันของไขมันให้กลายเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ และ เร่งการสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ให้เป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เนื่องมาจากอิมัลชันควบคุมมีค่าต่างๆ เพิ่มขึ้นตั้งแต่ 2 ถึง 4 เท่า เมื่อเทียบกับค่าที่วิเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวิธีทดสอบ นอกจากนี้ ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ยังส่งผลให้สารต้านออกซิเดชันต่างๆ มีประสิทธิภาพลดน้อยลงตามไปด้วย เห็นได้จากประสิทธิภาพของ BHT ที่ลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มสูงขึ้น

ถึงแม้ว่า การเติมสารสกัดพืชในอิมัลชันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงจะทำให้ความสามารถในการต้านออกซิเดชันลดลง แต่การใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิด (สารสกัดทะเลและผักไผ่) ก็ยังคงมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้ BHT ในอิมัลชันของทุกวิธีวิเคราะห์ โดยสารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนสูงที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม และสารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม ส่วนสารสกัดที่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุด คือ สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม

การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเก็บรักษาที่ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยพบว่า การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันแปรผันตามอุณหภูมิที่สูงขึ้น เมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะใช้เวลาสั้นลง จึงมีอายุการเก็บรักษาที่สั้นลง ส่วนที่อุณหภูมิต่ำสามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี ผลการทดลองพบว่า การเติมสารสกัดพืชทั้งทะเลและผักไผ่ ล้วนแต่มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่ดี โดยเฉพาะอย่างยิ่ง การใช้โดยสารสกัดทะเล 500 พีพีเอ็มที่มีประสิทธิภาพดีกว่า BHT ในทุกอุณหภูมิทดสอบ

4.3.4 ผลของพีเอชและอุณหภูมิที่มีต่อปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชัน

• อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์

เมื่อพิจารณาระดับการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิการเก็บรักษา (25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส) ของอิมัลชันที่มีพีเอชต่างๆ พบว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาเดียวกัน อิมัลชันเกิดการออกซิเดชันไขมันในทุกวิธีวิเคราะห์เรียงลำดับจากต่ำไปสูง ได้แก่ พีเอช 3, 5.4 และ 7 เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิการเก็บรักษาทั้ง 3 ระดับพบว่า การเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิต่ำมีอัตราการเกิดออกซิเดชันต่ำกว่าที่อุณหภูมิสูง เรียงลำดับได้ดังนี้ การเก็บรักษาที่ 25, 35 และ 45 องศาเซลเซียส โดยเฉพาะอย่างยิ่งการเก็บรักษาที่ 45 องศาเซลเซียส จะเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในทุกวิธีที่วิเคราะห์ ทำให้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำอย่างเด่นชัดและยังพบว่า อิมัลชันที่พีเอช 3 เกิดการออกซิเดชันสูงที่สุด ส่วนที่พีเอช 5.4 และ 7 พบว่า มีค่าที่วิเคราะห์ได้ใกล้เคียงกัน แสดงให้เห็นว่า ปัจจัยของอุณหภูมิ การเก็บรักษามีบทบาทสำคัญต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงพีเอชของระบบจะส่งผลต่อการออกซิเดชันแตกต่างกันไปตามอุณหภูมิการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาการใช้สารสกัดทะเล และผักไผ่ ที่ระดับความเข้มข้นทั้งสองในอิมัลชัน พบว่า ประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันแปรผันตามค่าพีเอชของระบบ โดยสารสกัดพืชทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพดีที่พีเอช 5.4 และ 7 แต่มีประสิทธิภาพต่ำที่สุดในทุกวิธีวิเคราะห์ที่พีเอช 3 และเมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาสูงขึ้น การเติมสารสกัดพืชในระบบที่มีพีเอช 3 ส่งผลให้สารสกัดพืชแสดงสมบัติเป็นสารโปร-ออกซิแดนท์ที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันแทนการยับยั้งปฏิกิริยา อย่างไรก็ตาม การเติมสารสกัดทะเลและผักไผ่ที่ระดับความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันที่ดีในทุกพีเอชและทุกอุณหภูมิการเก็บรักษา ส่วนการใช้สารสกัดพืชในระดับต่ำ (สารสกัดทะเล 300 พีพีเอ็ม หรือสารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม) สามารถยับยั้งการออกซิเดชันได้ในช่วง 35 หรือ 42 วันของการเก็บรักษาเท่านั้น

การเปลี่ยนแปลงของอัตราการเกิดปฏิกิริยาเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นทุกๆ 10 องศาเซลเซียส แสดงในรูปของค่า Q_{10} ผลการทดลองพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาจาก 25 เป็น 35 องศาเซลเซียส

อิมัลชันทดสอบมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงกว่าการเพิ่มอุณหภูมิจาก 35 เป็น 45 องศาเซลเซียส อีกทั้งการเพิ่มอุณหภูมิการเก็บรักษาส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาที่พีเอชต่ำให้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย (ตารางที่ 4.7) โดย การเก็บรักษาอิมัลชันที่อุณหภูมิการสูงขึ้นส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิตของผลิตภัณฑ์ลดลงตามไปด้วย โดยพบว่า ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ค่าครึ่งชีวิตมีค่าน้อยที่สุด และค่าครึ่งชีวิตมีแนวโน้มที่จะลดลงตามค่าพีเอชของระบบที่ลดลงอีกด้วย แสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิและพีเอชต่างก็เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการเพิ่มหรือลดอัตราการเกิดปฏิกิริยา รวมทั้งยังให้ผลเสริมฤทธิ์กันในการเร่งการเกิดออกซิเดชันของไขมันทั้งการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ผลิตภัณฑ์ปฐมภูมิ) และการสลายไฮโดรเปอร์ออกไซด์ให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิชนิดต่างๆ

ด้วยเหตุนี้ การประยุกต์ใช้สารสกัดพืชเป็นสารต้านออกซิเดชันในอิมัลชัน ต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆหลายประการ ทั้งลักษณะทางกายภาพ การเปลี่ยนแปลงทางเคมี อุณหภูมิการเก็บรักษาความเหมาะสมของระบบที่ทำให้การต้านออกซิเดชันมีประสิทธิภาพสูงที่สุด รวมถึงปัจจัยด้านความแตกต่างของพืช ซึ่งจะช่วยให้การนำสารสกัดพืชมาใช้ประโยชน์ได้ตรงตามวัตถุประสงค์ โดยผลการทดลองนี้พบว่า สารสกัดทะโล้ 500 พีพีเอ็มมีประสิทธิภาพในการต้านการหืนสูงที่สุดในอิมัลชันที่มีพีเอชต่างกันและเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่างๆ รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้ยังมีลักษณะทางกายภาพที่ดี รองลงมาคือ การใช้สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม และสารสกัดทะโล้ 300 พีพีเอ็ม อีกทั้งการใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิดนี้ยังมีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม จึงสามารถนำสารสกัดพืชดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อไป

ตารางที่ 4.7 ค่า Q_{10} และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์เปอร์เซ็นต์ที่พีเอชและอุณหภูมิต่างๆ

ตัวอย่าง* ppm		PV		p-AV		TBARS		Totox V	
		Q_{10}	$t_{1/2}$ (days)	Q_{10}	$t_{1/2}$ (days)	Q_{10}	$t_{1/2}$ (days)	Q_{10}	$t_{1/2}$ (days)
T=25 °C									
pH=3	Control	2.959	50.4	0.4391	147.4	0.250	0.173	52.54	36.4
	BHT 100	2.945	59.9	0.8557	172.7	4.474	0.326	13.58	47.4
	TA 300	3.635	44.8	2.272	379.0	20.340	1.645	4.094	22.3
	500	4.438	50.7	1.890	304.5	16.930	0.868	17.04	28.6
	PP 250	3.218	37.8	6.438	364.6	239.6	9.621	13.07	19.8
	500	3.419	41.2	2.192	198.6	15.006	0.719	16.41	22.4
	Control	4.524	49.4	2.083	319.2	0.835	0.579	42.78	29.7
	BHT 100	4.071	53.4	0.6787	229.9	407.300	15.580	28.23	38.2
	TA 300	3.728	49.5	2.198	823.6	10.660	0.554	10.50	25.1
	500	3.028	43.4	0.1259	4097.2	4.244	0.346	8.978	21.8
pH=5	PP 250	3.656	47.6	0.4936	88.5	43.108	3.879	14.82	44.2
	500	3.730	44.9	0.3656	124.8	37.162	3.465	13.86	30.8
	Control	1.591	14.5	12.34	699.4	0.150	0.104	2.948	2.0
	BHT 100	1.717	17.8	4.804	443.3	4.094	0.078	6.561	3.9
	TA 300	1.884	25.0	1.405	884.6	50.96	1.530	6.390	5.8
	500	1.704	24.6	4.678	1078.2	12.29	1.012	3.307	5.7
	PP 250	1.740	20.0	1.217	110.3	17.43	1.132	2.487	4.9
	500	1.634	22.8	0.0266	92.1	14.25	0.934	6.005	6.9
	Control	1.591	14.5	12.34	699.4	0.150	0.104	2.948	2.0
	BHT 100	1.717	17.8	4.804	443.3	4.094	0.078	6.561	3.9

ตารางที่ 4.7 (ต่อ)

		PV		p-AV		TBARS		Totox V	
ตัวอย่าง*	ppm	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)
T=35 °C									
pH=3	Control	2.375	17.0	19.25	335.8	40.57	0.6931	3.175	0.693
	BHT 100	2.704	20.3	9.595	201.9	4.115	0.0730	12.36	3.489
	TA 300	1.517	12.3	10.25	166.8	7.478	0.0809	21.27	5.445
	500	1.330	11.4	8.003	161.1	2.683	0.0513	5.037	1.679
	PP 250	1.447	11.7	2.154	56.6	2.528	0.0401	5.805	1.512
	500	1.449	12.0	4.365	90.6	2.130	0.0479	5.029	1.368
pH=5	Control	1.359	10.9	8.722	153.3	40.38	0.6931	2.810	0.693
	BHT 100	1.686	13.1	16.019	338.8	2.070	0.0383	4.926	1.351
	TA 300	1.777	13.3	19.688	374.7	4.134	0.0519	10.09	2.389
	500	1.677	14.3	1372	32535.4	4.086	0.0816	6.228	2.423
	PP 250	1.619	13.0	8.214	179.2	4.277	0.0900	10.32	2.980
	500	1.353	12.0	10.65	341.4	4.562	0.0932	4.882	2.222
pH=7	Control	0.990	9.1	2.622	56.7	24.05	0.6931	3.001	0.693
	BHT 100	1.096	10.4	4.048	92.3	0.781	0.0192	2.000	0.589
	TA 300	1.515	13.3	31.81	629.6	1.639	0.0300	3.524	0.909
	500	1.552	14.4	10.24	230.5	3.772	0.0823	5.483	1.713
	PP 250	1.298	11.5	3.827	90.7	2.192	0.0650	7.534	1.987
	500	1.594	13.9	127.3	3467.1	2.204	0.0656	4.299	1.146

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเดิม BHT 100 ฟีฟีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเล 300 ฟีฟีเอ็ม, TA500==สารสกัดทะเล 500 ฟีฟีเอ็ม, PP250=สารสกัดผัก 250 ฟีฟีเอ็ม, PP500=สารสกัดผัก 500 ฟีฟีเอ็ม

- อิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซนต์

ผลการเพิ่มอนุมูลิกการเก็บรักษาจาก 25 เป็น 35 องศาเซลเซียส พบว่า อิมัลชันควบคุมมีอัตราการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มสูงกว่าการเพิ่มอนุมูลิกจาก 35 เป็น 45 องศาเซลเซียส อีกทั้งการเพิ่มอนุมูลิกการเก็บรักษา ส่งผลต่อการเกิดปฏิกิริยาที่ฟิเอชต่ำ (ฟิเอช 3) ให้มีค่าเพิ่มสูงขึ้นตามไปด้วย แต่ในอิมัลชันที่มีฟิเอช 5.4 หรือ 7 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว ส่วนค่าครึ่งชีวิต (t_{1/2}) ของอิมัลชัน พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้ค่าครึ่งชีวิตของอิมัลชันทุกฟิเอชทดสอบมีค่าลดลง ในขณะที่อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชกลับมีค่า Q₁₀ และ t_{1/2} ใกล้เคียงกันแม้จะเพิ่มอนุมูลิกขึ้น แสดงให้เห็นว่า อนุมูลิกที่เพิ่มสูงขึ้น ส่งผลโดยตรงต่อการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้มากขึ้น ซึ่งทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สั้นลงไปด้วย แต่การเติมสารสกัดพืชเพื่อยับยั้งการออกซิเดชันยังคงให้ผลดีในทุกอุณหภูมิทดสอบ

ตารางที่ 4.8 ค่า Q_{10} และค่าครึ่งชีวิต ($t_{1/2}$) ของอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์เปอร์เซ็นต์ที่พีเอช และอุณหภูมิต่างๆ

		PV		TBARS		p-AV		Totox V		
ตัวอย่าง* ppm		Q ₁₀	t _½ (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	Q ₁₀	t _{1/2} (days)	
T=25 °C										
pH=3	Control		1.843	70.8	1.389	408.9	0.124	210.9	1.268	108.1
	BHT	100	1.304	58.6	2.492	412.0	22.317	8415.6	1.459	125.0
	TA	300	1.087	21.7	3.050	235.6	0.748	93.5	1.042	30.1
		500	1.100	19.4	3.730	210.9	0.222	59.1	0.924	25.8
	PP	250	1.256	13.6	1.896	49.7	1.312	85.1	1.327	18.0
		500	1.133	13.3	1.270	45.3	0.284	94.5	1.056	17.6
pH=5	Control		1.313	13.7	1.555	52.6	1.576	184.6	1.356	19.6
	BHT	100	1.260	16.3	0.934	124.7	0.370	128.0	1.197	23.6
	TA	300	1.133	23.6	3.805	334.0	42.305	5481.8	1.390	43.0
		500	1.286	26.0	1.443	157.8	1.407	208.6	1.920	58.5
	PP	250	1.520	31.7	0.141	189.3	0.728	107.6	1.415	44.5
		500	1.283	34.2	0.162	118.8	0.445	85.4	1.098	46.2
pH=7	Control		1.127	10.8	1.373	46.8	1.118	88.9	1.096	14.0
	BHT	100	1.126	13.1	1.095	61.5	0.376	139.7	1.075	18.4
	TA	300	1.182	16.5	4.672	186.3	0.487	159.5	1.403	26.6
		500	1.424	19.4	4.510	173.7	0.425	136.4	1.838	33.6
	PP	250	1.159	14.5	3.892	270.7	0.731	108.9	1.176	19.2
		500	1.250	17.2	6.564	1043.8	1.075	106.8	1.261	22.6
T=35 °C										
pH=3	Control		4.539	38.4	17.578	294.3	53.136	1695.2	8.028	85.2
	BHT	100	4.419	44.9	6.088	165.3	8.135	377.1	6.578	85.7
	TA	300	2.385	19.9	2.872	77.2	4.759	124.9	2.838	28.9
		500	2.105	17.7	2.188	56.5	10.557	266.5	2.718	27.9
	PP	250	1.118	10.8	0.982	26.2	3.253	64.8	1.228	13.6
		500	1.161	11.7	1.227	35.6	15.844	332.8	1.446	16.6
pH=5	Control		1.134	10.4	1.560	33.8	5.021	117.1	1.342	14.5
	BHT	100	1.333	13.0	4.725	133.6	11.981	345.4	1.693	19.8
	TA	300	1.664	20.8	2.878	87.8	1.921	129.6	1.891	31.0
		500	1.464	20.2	2.858	109.3	1.691	148.2	1.649	30.5
	PP	250	2.169	20.8	55.915	1337.8	4.381	147.7	2.701	31.5
		500	2.287	26.6	14.794	732.9	3.744	192.0	2.881	42.1
pH=7	Control		0.955	9.6	1.242	34.1	2.749	79.5	1.080	12.8
	BHT	100	1.120	11.7	2.208	56.2	14.018	371.9	1.426	17.1
	TA	300	1.267	14.0	1.506	39.9	10.096	327.4	1.479	19.0
		500	1.217	13.6	1.486	38.5	9.316	321.0	1.405	18.3
	PP	250	1.193	12.5	2.528	69.6	5.330	149.1	1.343	16.3
		500	1.248	13.8	4.897	159.0	3.034	99.4	1.380	17.9

หมายเหตุ Control=ตัวอย่างควบคุม, BHT=ตัวอย่างเติม BHT 100 พีพีเอ็ม, TA300=สารสกัดทะเลได้ 300 พีพีเอ็ม, TA500=สารสกัดทะเลได้ 500 พีพีเอ็ม, PP250=สารสกัดผักไผ่ 250 พีพีเอ็ม, PP500=สารสกัดผักไผ่ 500 พีพีเอ็ม

นอกจากนี้ อิมัลชันทดสอบที่มีพีเอชต่างกันก็มีการเปลี่ยนแปลงที่อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 25 - 45 องศาเซลเซียสแตกต่างกัน โดยพบว่า ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาเดียวกันอิมัลชันที่มีพีเอชต่ำเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันมากกว่าที่พีเอชสูง (5.4 และ 7) และเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่า ปฏิกิริยาออกซิเดชันแปรผันตามอุณหภูมิทดสอบ โดยที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเกิดการออกซิเดชันสูงที่สุด

ผลของพีเอชและอุณหภูมิการเก็บรักษาที่มีต่ออิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้งสองชนิด พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดพืช มีความสัมพันธ์กับพีเอชของระบบทดสอบ โดยที่พีเอชต่ำประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง แต่ที่พีเอช 5.4 และ 7 กลับมีประสิทธิภาพสูงกว่าหรือเทียบเท่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม ส่วนการเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้น ก็เร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในทุกพีเอชทดสอบ โดยเฉพาะอิมัลชันที่มีพีเอช 7 แสดงว่า การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของระบบอิมัลชันนี้แปรผันตามอุณหภูมิมากกว่าพีเอชที่ใช้ทดสอบ ด้วยเหตุนี้ การใช้สารสกัดพืชทั้งสองชนิดเพื่อเป็นสารต้านออกซิเดชันต้องคำนึงถึงปัจจัยทั้งสอง โดยสารสกัดทะโล้ 500 พีพีเอ็ม มีความเหมาะสมที่สุด เนื่องจากทนพีเอชในช่วงกว้างและทนอุณหภูมิสูงได้ดี

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

สารสกัดพืช ทั้งหมด 10 ชนิด มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี DPPH, TEAC, FRAP และ ORAC แตกต่างกันไปตามสายพันธุ์และวิธีทดสอบ โดย สารสกัดพืชความเข้มข้น 100 พีพีเอ็ม มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 11.18-42.94 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนความสามารถในการต้านออกซิเดชันที่วิเคราะห์ได้ด้วยวิธี DPPH มีค่า IC_{50} อยู่ระหว่าง 38.2-1,558 พีพีเอ็ม และมีค่า TEAC และ FRAP ตั้งแต่ 14.42-141.4 และ 6.047-57.23 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนค่า ORAC วิเคราะห์จากสารสกัดพืชความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 0.676-2.077 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดพืช 3 ชนิดที่มีปริมาณฟีนอลิกและความสามารถในการต้านออกซิเดชันทุกๆ วิธีสูง ได้แก่ สารสกัดทะเลไฉ้ หมี่เหม็นและผักไผ่ นอกจากนี้ยังพบว่า สารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทสำคัญต่อการออกซิเดชันในสารสกัดพืชที่ทำการทดสอบอีกด้วย

ผลการใช้สารสกัดพืช 10 ชนิดที่มีความเข้มข้นสองระดับ (200 และ 500 พีพีเอ็ม) ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การเติมสารสกัดพืชแต่ละชนิด มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีแตกต่างกัน การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืชทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีเขียวหรือสีเหลืองเข้มขึ้นตามชนิดของพืช และแรงควัตถุเหล่านี้จะสลายตัวในระหว่างการเก็บรักษาไว้ 56 วัน อีกทั้งการเติมสารสกัดพืชมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวลดลงด้วย ส่วนการเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลทำให้การเกิดออกซิเดชันเพิ่มขึ้น โดยมีค่า PV, TBARS, p-AV และ Totox V เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บ การเติมสารสกัดพืชมีส่วนช่วยให้การเกิดออกซิเดชันลดลง แต่ขึ้นกับชนิดและองค์ประกอบของพืช นอกจากนี้การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืช ทำให้ประสิทธิภาพในการต้านการหืนเพิ่มขึ้นสูงตามไปด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารสกัดทะเลไฉ้ หมี่เหม็น และผักไผ่ ที่ความเข้มข้น 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพดีกว่าการใช้ BHT 100 พีพีเอ็ม สำหรับอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 70 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อิมัลชันที่เติมสารสกัดพืชทั้ง 10 ชนิด มีความคงตัวดีตลอดอายุการเก็บรักษา 32 วัน และการเพิ่มความเข้มข้นไม่มีผลต่อสีของผลิตภัณฑ์ ส่วนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และการเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดพืช ให้ผลเช่นเดียวกับอิมัลชันประเภทน้ำในน้ำมันที่มีสัดส่วนน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์ อีกทั้งยังพบว่า การใช้สารสกัดทะเลไฉ้ทั้งสองความเข้มข้น มีประสิทธิภาพสูงที่สุดในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เกิดขึ้นในทุกวิธีวิเคราะห์ สำหรับอัตราการออกซิเดชันของไขมันเป็นไปตามปฏิกิริยาอันดับที่หนึ่ง (First order reaction) ซึ่งการเติมสารสกัดพืช 500 พีพีเอ็ม ส่งผลให้ค่าอัตราการเกิดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยา(k)ลดลงได้มากกว่าการใช้ที่ 200 พีพีเอ็มและยังมีค่าครึ่งชีวิตเพิ่มขึ้น ผลการทดลองพบว่า สารสกัดทะเลไฉ้และผักไผ่เป็นสารสกัดพืชที่มีประสิทธิภาพสูง

การศึกษามูลของพีเอชและอุณหภูมิการเก็บรักษา ที่มีต่อการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดพืชที่คัดเลือก คือ สารสกัดตะไคร้ (300 และ 500 พีพีเอ็ม) และสารสกัดผักไผ่ (250 และ 500 พีพีเอ็ม) พบว่า ความคงตัวของอิมัลชันแปรผกผันกับอุณหภูมิการเก็บรักษา โดยอิมัลชันทุกพีเอชมีความคงตัวสูงที่สุดในการเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส และลดลง เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น โดยพบการแยกชั้นของน้ำมัน(oil separation) ในอิมัลชันทดสอบทุกชนิดที่เก็บรักษาที่ 45 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังพบว่า อิมัลชันที่มีพีเอชต่ำกว่ามีแนวโน้มเสถียรภาพเร็วกว่า และการออกซิเดชันของไขมันสูงกว่า อิมัลชันที่มีพีเอชสูงกว่า นอกจากนี้ การลดอุณหภูมิในการเก็บรักษาอิมัลชันทุกพีเอช มีผลให้ความคงตัวของอิมัลชันดีกว่า และมีความสามารถในการต้านการหืนดีกว่า การเก็บที่อุณหภูมิสูง เมื่อพิจารณาประสิทธิภาพของสารสกัดพืชที่คัดเลือกสองชนิดพบว่า สารสกัดตะไคร้ 500 พีพีเอ็ม มีประสิทธิภาพในการต้านการหืนที่ดีในพีเอชทุกระดับและการเก็บรักษาอุณหภูมิต่างๆ รวมทั้งสารสกัดผักไผ่ ก็ยังมีประสิทธิภาพที่ดีในอิมัลชันที่มีประกอบด้วยน้ำมันต่างกัน ทั้งอิมัลชันที่ประกอบด้วยน้ำมัน 90 เปอร์เซ็นต์และ 70 เปอร์เซ็นต์ ส่งผลให้สารสกัดดังกล่าวสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในระบบอิมัลชันทั้งสองได้ รวมถึงผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นๆ ที่มีส่วนประกอบของไขมันได้อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การนำพืชมาใช้ในการทดสอบ ต้องตรวจสอบชื่อ ชนิด หรือพันธุ์พืชให้ถูกต้องชัดเจนจากผู้เชี่ยวชาญ เนื่องจาก พืชบางชนิดมีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ที่คล้ายกัน รวมถึง มีชื่อเรียกที่แตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น อาจทำให้เกิดความสับสนได้ อีกทั้งต้องเลือกใช้ส่วนต่างๆ ของพืชให้เหมาะสม เนื่องจากองค์ประกอบในแต่ละส่วนมีชนิดและปริมาณของสารพฤกษเคมีแตกต่างกันออกไป

5.2.2 การศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชัน ควรเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่มีกลไกแตกต่างกันในการเปรียบเทียบกัน เนื่องจาก สารพฤกษเคมีแต่ละชนิดมีความไว และกลไกการเข้าทำปฏิกิริยาต่อการทดสอบในวิธีวิเคราะห์แต่ละวิธีแตกต่างกัน การเลือกวิธีวิเคราะห์ที่แตกต่างกัน ทำให้ทราบถึงสมบัติที่แตกต่างกัน เช่น ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ ความสามารถในการรีดิวซ์ หรือ ความสามารถในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกลูโซ่ เป็นต้น

5.2.3 การคัดเลือกอิมัลซิไฟเออร์ให้เหมาะสมต่อระบบอิมัลชัน ต้องพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ ร่วมกัน ทั้งค่า HLB คุณสมบัติและชนิดของอิมัลซิไฟเออร์ ลักษณะการใช้อิมัลซิไฟเออร์ ขั้นตอนการเตรียมอิมัลชันสภาวะการทดสอบ รวมถึงการใช้สารเพิ่มคงตัว เพื่อให้อิมัลชันที่เตรียมขึ้นนี้มีความคงตัวตลอดอายุการเก็บรักษา

5.2.4 การนำสารต้านออกซิเดชันจากพืชไปใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ จำเป็นต้องศึกษาความเป็นพิษ การออกฤทธิ์ด้านต่างๆ และปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ ตลอดจน สภาวะที่เหมาะสมในการออกฤทธิ์ เพื่อให้สามารถใช้ประโยชน์จากสารต้านออกซิเดชันที่พบในพืชให้ได้สูงที่สุด

บรรณานุกรม

- ก่องกานดา ชยามฤต. 2540. **สมุนไพรไทย ตอนที่ 6**. ฝ่ายพฤกษศาสตร์ป่าสำนักวิชาการป่าไม้ กรมป่าไม้. ไดมอนด์ พรีเมียม. กรุงเทพฯ. 175 หน้า.
- ณรงค์ นิยมวิทย์. 2538. **องค์ประกอบและการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของอาหาร**. ฟอรัมเพท พรีเมียม. กรุงเทพฯ. 237 หน้า
- นันทวัน บุญประภัสร์ และ อรุณ โชคชัยเจริญพร. (บรรณาธิการ.) 2543. **สมุนไพร: ไม้พื้นบ้าน (5)**. สำนักงานข้อมูลสมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. ประชาชน. กรุงเทพฯ. 508 หน้า.
- นราพร พรหมไกรวร. 2552. **ความสามารถในการต้านออกซิเดชันและสารสำคัญที่พบในสารสกัดจากพืชป่าบางชนิด**. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 158 หน้า
- นวลศรี รักจริยะธรรม และ อัญญา เจนวิถีสุข. 2546. **แอนติออกซิแดนท์ : สารต้านมะเร็งในผัก-สมุนไพรไทย**. นพบุรุษการพิมพ์. เชียงใหม่. 218 หน้า.
- พิมพ์ สีสภาพพิสิฐ. 2532. **เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง**. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 220 หน้า
- พรพิพัฒน์ ณ พัทลุง, นวลจิรา ภักดิ์รุ่งรอง และ พิเชษฐ์ วิริยะจิตรา. 2529. **ฤทธิ์ต้านเชื้อราของสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร**. [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก: <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/pdf/1986/19860060.pdf> (วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2552)
- วิมล ตันติไชยากุล. 2528. **อัลคาลอยด์และคูมารินจากต้นสอฟ้าแดงและต้นหัสศคุณไทย**. [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/pdf/1985/19850097.pdf> (วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2552)
- วรศรา วัยศิริโรจน์. 2523. **อัลคาลอยด์จากใบหัสศคุณ**. [ออนไลน์.] เข้าถึงได้จาก : <http://www.pharmacy.mahidol.ac.th/medplantdatabase/pdf/1980/19800042.pdf> (วันที่ 5 กุมภาพันธ์ 2552)
- สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ก. **องค์ความรู้เรื่อง พืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๑**. มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พรีเมียมแอนด์พับลิชชิง. กรุงเทพฯ. 978 หน้า.
- สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ข. **องค์ความรู้เรื่อง พืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๒**. มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พรีเมียมแอนด์พับลิชชิง. กรุงเทพฯ. 920 หน้า.
- สุธรรม อารีกุล, จำรัส อินทร, สุวรรณ ทาเขียว และ อ่องเต็ง นันทแก้ว. 2551ค. **องค์ความรู้เรื่อง พืชป่าที่ใช้ประโยชน์ทางภาคเหนือของไทย เล่ม ๓**. มูลนิธิโครงการหลวง. อมรินทร์พรีเมียมแอนด์พับลิชชิง. กรุงเทพฯ. 886 หน้า.
- _____. 2011. Emulsions. [online]. available : http://imk209.wikispaces.com/Emulsions_csm . (Accessed 25 December 2011).

- Abdalla, A.E. and Roozen, J.P. 1999. Effect of plant extracts on oxidative stability of sunflower oil and emulsion. **Food Chemistry**. 64: 323-329.
- Almajano, M.P., Delgado, M.E. and Gordon, M.H. 2007. Albumin causes a synergistic increase in the antioxidant activity of green tea catechins in oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**. 102: 1375–1382.
- AOCS. 1997. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemist's Society. Method Cd 18-60. AOCS. Champaign. Illinois.
- AOCS. 2003. Official and Tentative Methods of the American Oil Chemist's Society. Method Cd 8-53. AOCS. Champaign. Illinois.
- Aoki, T., Decker, E.A. and McClement, D.J. 2005. Influence of environmental stresses on stability of O/W emulsions containing droplets stabilized by multilayered membranes produced by a layer-by-layer electrostatic deposition technique. **Food Hydrocolloids**. 19(2): 209-220.
- Antolovich, M., Prenzler, P.D., Patsalides, E., McDonald, S. and Robards, K. 2002. Methods for testing antioxidant activity. **The Royal Society of Chemistry**. 127: 183-193.
- Balsam, M.S. and Sagarin, M.M. 1974. Cosmetic Science Technology. volume 3 second edition. Wiley Interscience.
- Batista, A.P., Raymundo, A., Sousa, I. and Empis, J. 2006. Rheological characterization of coloured oil-in-water food emulsions with lutein and phycocyanin added to the oil and aqueous phases. **Food Hydrocolloids**. 20: 44-52.
- Belitz, H.-D. and Grosch, W. 1999. Food Chemistry. second edition. Springer. Berlin and New York. pp. 992 .
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry**. 239: 70-76.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assays: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version of simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration. **Methods in Enzymology**. 299: 15-27.
- Bera, D., Lahiri, D. and Nag, A. 2006. Studies on a natural antioxidant for stabilization of edible oil and comparison with synthetic antioxidants. **Journal of Food Engineering**. 74 : 542–545.
- Borneo, R., Leon, A.E., Aguirre, A., Ribotta, P. and Cantero, J.J. 2009. Antioxidant capacity of medicinal plants from the Province of Cordoba (Argentina) and their *in vitro* testing in a model food system. **Food Chemistry**. 112 : 664–670.

- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**. 28: 25-30.
- Bros, W., Michel, C. and Schikora, S. 1995. Interaction of flavonoids with ascorbate and determination of their univalent redox potentials: A pulse radiolysis study. **Free Radical Biology and Medicine**. 19(1): 45.
- Burton, G.W. and Ingold, K.U. 1984. β -Carotene: an unusual type of lipid antioxidant. **Science** 224: 569-73.
- Cai, Y.Z., Sun, M., Jie, X., Luo, Q., and Corke, H. 2006. Structure-radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. **Life Sciences**. 78: 2872-2888.
- Cao, G. and Prior, R. L. 1998. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. **Clinical Chemistry**. 44: 1309-1315.
- Chang, Y.B., Kuechle, J., Reese, T. and SaintLouis, P. 2002. Colloidal and surface phenomenal aspects of Ice cream. [onlines]. available: http://www.eng.buffalo.edu/Courses/ce457_527/ce457_pro/g2_doc.htm. (Accessed 25 December 2011).
- Choe, E. and Min, D.B. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 5: 169-186.
- Choi, E.-M. and Hwang, J.-K. 2004. Effects of methanolic extract and fractions from *Litsea cubeba* bark on the production of inflammatory mediators in RAW264.7 cells. **Fitoterapia**. 75: 141-148.
- Coupland, J.N. and McClements, D.J. 1996. Lipid oxidation in food emulsions. **Trends in Food Science and Technology**. 7: 83.
- Dávalos, A., Gómez-Corodovés, C. and Bartolomé, B. 2004. Extending applicability of the oxygen radical absoebance capacity (ORAC-Fluorescein) assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52: 48-54.
- Dickinson, E. 1992. An Introduction to Food Colloids. Oxford University Press. Oxford.
- Dickinson, E. and Stainsby, G. 1982. Colloids in Foods. Applied Science Publishers. London. UK.
- Decker, E.A., Warner, K., Richard, M.P. and Shahidi, F. 2005. Measuring antioxidant effectiveness in food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 53: 4303-4310.
- Decker, E.A. 2007. Antioxidant Mechanisms. *In* Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Third Edition. (Akoh, C.C. and Min, D.B.(Editors)). Taylor and Francis. 928 pp.

- Demetriades, K. , J.N. Coupland and D. J . McClements. 1997. Physical properties of whey protein stabilized emulsions as related to pH and NaCl. . **Journal of Food Science**. 62; 342-347.
- Dillard, C.J. and German, J. B. 2000. Phytochemicals: nutraceuticals and human health. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 80: 1744-1756.
- Di Mattia, C.D., Sacchetti G., Mastrocola, D. and Pittia P. 2009. Effect of phenolic antioxidants on the dispersion state and chemical stability of olive oil O/W emulsions. *Food Research International*. 42: 1163–1170.
- Duh, P. 1999. Antioxidant activity of water extract of four Harng Jyur (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) varieties on soybean oil emulsion. **Food Chemistry**. 66: 471-476.
- Frankel, E.N. 1993. In search of better methods to evaluate natural antioxidants and oxidative stability in food lipids. **Trend in Food Science and Technology**. 4: 220-225.
- Frankel, E.N. 1996. Antioxidants in lipid foods and their impact on food quality. **Food Chemistry**. 57:51-55.
- Frankel, E.N. 1998. Lipid Oxidation. American Chemical Society. Washington, DC.
- Friberg, S.E. and Larsson, K. 1997. Food Emulsions. 3rd edition. Marcel Dekker. New York.
- Garti, N. and Benichou, A. 2004. Recent developments in double emulsions for food applications, *In Food Emulsions*. 4th edition. (Friberg, S., Larsson, K. and Sjoblom, J. (Editors.)) Marcel Dekker. New York. Chapter 10.
- Gray, J. 1978. Measurement of the lipid oxidation . *Journal of the American Oil Chemist's Society*. 55; 539-546.
- Guzey, D. and McClements, D.J. 2006. Formation, stability and properties of multilayer emulsions for application in the food industry. **Advances in Colloid and Interface Science**. 128-130: 227-248.
- Gwozdz, G. 2009. Formulation| A Perfect Formulation. [onlines]. available : <http://www.pharmaquality.com/ME2/Audiences/dirmod.asp?sid=325598564E8C4B3EB736C7159241312D&nm=&type=Publishing&mod=Publications%3A%3AArticle&mid=D3E3C719D8D44216836DCA4F4144BEC4&tier=4&id=38634D14D66141D59D6EB84AC32EF278&AudID=> (Accessed 25 December 2011).
- Halliwell, B. 1990. How to characterize biological antioxidant. **Free Radical Research Communication**. 9: 1-32.
- Hao Dieu Nguyen, L. and Harrison, L.J. 1998. Triterpenoids and xanthone constituents of *Cratoxylum cochinchinenses*. **Phytochemistry**. 50: 471-476.

- Hawrysh, J., Zenia, M., Kim, E., Hardin, S. and Robert., T. 1996. Quality and stability of potato chips fried in canola, partially hydrogenated canola, soybean and cottonseed oil. **Journal of Food Quality**. 19(2); 107-112.
- Hwang, J.-K., Choi, E.-M. and Lee, J.H. 2005. Antioxidant activity of *Litsea cubeba*. **Fitoterapia**. 76: 684-686.
- Juntachote, T., Berghofer, E., Siebenhandl, S. and Bauer, F. 2006. The antioxidative properties of holy basil and galangal in cooked ground pork. **Meat Sci**. 72: 446-456.
- Katsube, T., Tabata, H., Ohta, Y., Yamasaki, Y., Anuurad, E., Shiwaku, K. and Yamane, Y. 2004. Screening for antioxidant activity in edible plants products: Comparison of low-density lipoprotein oxidation assay, DPPH radical scavenging assay, and Folin-Ciocalteu assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52: 2391-2396.
- Kays, S.J. 1991. Postharvest Physiology of Perishable Plant Products. Vab Nostrand Reinhold. New York.
- Kubow, S. 1992. Routes of formation and toxic consequences of lipid oxidation products in foods. **Free Radical Biology and Medicine**. 12: 63-81.
- Laguerre, M., Lecomte, J. and Villeneuve, P. 2007. Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: Existing methods, new trends and challenges. **Progress in Lipid Research**. 46: 244-282.
- Lemmens, R.H.M.J. and Bunyapraphatsara, N. (Editors.) 2003. Plant resources of South-East Asia No.12(3) : Medicinal and poisonous plants 3. Bogor. Indonesia. 664 pp.
- Mahabusarakam, W., Nuangnaowarat, W. and Taylor, W.C. 2006. Xanthone derivatives from *Cratoxylum cochinchinenses* roots. **Phytochemistry**. 67: 470-474.
- Matile, P., Hörntensteiner, S. and Thomas, H. 1999. Chlorophyll degradation. **Annual Review of Plant Biology**. 47: 609-618.
- Maqsood, S. and Benjakul, S. 2010. Comparative studies of four different phenolic compounds on in vitro antioxidative activity and the preventive effect on lipid oxidation of fish oil emulsion and fish mince. **Food Chemistry**. 119: 123-132.
- McClement, D.J. 2000. Comments on viscosity enhancement and depletion flocculations by polysaccharides. **Food Hydrocolloids**. 14: 173-177.
- McClement, D.J. 2002. Lipid-Based Emulsion and Emulsifiers. *In* Food Lipids-Chemistry, Nutrition and Biotechnology. second edition. (Akoh, C.C. and Min D.B. (Editors)) Marcel Dekker. 1005 pp.
- McClement, D.J. 2005. Food Emulsion : principle, practice and techniques. second edition. CRC Press. New York. 609 pp.

- McClement, D.J. 2009. Biopolymer in Food Emulsion. *In* Modern Biopolymer Science. (Kasapis, F., Norton, I.T. and Ubbink, J.B. (Editors) Elsevier. 129-166 pp.
- McClements, D.J. and Decker, E.A. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions: Impact of molecular environment on chemical reactions in heterogeneous food systems. **Journal of Food Science**. 65: 1270-1282.
- McDonald, R.E., and Hultin, H.O. 1987. Some characteristics of the enzymic lipid peroxidation systems in the microsomal fraction of flounder muscle. **Journal of Food Science**. 52: 15-21.
- Min, D.B. 1998. Lipid oxidation of edible oil. *In* Food Lipids: Chemistry, Nutrition and Biotechnology. (Akoh, C.C and Min, D.B. (editors.)) Marcel Dekker. New York. 283-296pp.
- Nakahara, K., Trakoontivakorn, G., Alzoreky, N.S., Ono, H., Onishi-Kameyama, M. and Yoshida, M. 2002. Antimutagenicity of some edible Thai plants, and a bioactive carbazole alkaloid, mahanine, isolated from *Micromelum minutum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50: 4796-4802.
- Nawar, W.W. 1996. Lipids. *In* Food Chemistry. third edition. (Fennema, O.R. (Editor). Marcel Dekker. New York.
- Oyen, L.P.A. and Dung, N.X. 1999. Plant resources of South-East Asia No.19 : Essential-oil plants. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 277 pp.
- Porras, M., Solans, C., González, C. and Gutiérrez. 2008. Properties of water-in-oil (W/O) nano-emulsions prepared by a low-energy emulsification method. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**. 324:181-188.
- Porter, W.L., Black, E.D. and Drolet, A.M. 1989. Use of polymide oxidative fluorescence test on lipid emulsions: contrast in relative effectiveness of antioxidants in bulk versus dispersed systems. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 37: 615-624.
- Nawar, W.W. 1996. Lipid. *In* Food Chemistry 3th edition. (Fennema, O.R. (Editor)). Marcel Dekker, Inc. pp 225-321.
- Phomkaivon, N. and Areekul, V. 2009. Screening of antioxidant activity of selected Thai wild plants. **Asian Journal of Food and Agro-Industry**. 2(4). 433-440.
- Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1997) Antioxidant properties of phenolic compounds. Trends Plant Science. 2; 152-159.
- Rossell, J.B. 1983. Measurement of rancidity. *In* Rancidity in foods (Hill J.C. and Hamilton, R.J. (Editors)). Applied Science Publishers Ltd. pp.2628.
- Rousseau, D. 2000. Fat crystals and emulsion stability: A review. Food RES int, 33; 3-14.

- Roy, M.K., Takenaka, M., Isobe, S., and Tsushida, T. 2007. Antioxidant potential, anti-proliferative, and phenolic content in water-soluble fractions of some commonly consumed vegetables: Effects of thermal treatment. **Food Chemistry**. 103: 106-114.
- Sjoblom, J., Fordedal, H. and Skodvin, T. (1996). Flocculation and coalescence in emulsions studied by dielectric spectroscopy. *In* Emulsion and Emulsion Stability. (Sjoblom, J. (Editor.)) Marcel Dekker. New York. Chapter 8.
- Cao, G., Sofic, E. and Prior, R.L. 1997. Antioxidant and prooxidant behaviour of flavonoids: structure-activity relationships. **Free Radical Biology and Medicine**. 22; 749-760.
- Sahu, S.C. and Gray, G.C. 1993. Interactions of flavonoids, trace metals, and oxygen: nuclear DNA damage and lipid peroxidation induced by myricetin. **Cancer Letters**. 70;73-79.
- Samotyja, U. and Matecka M. 2007. Effects of blackcurrant seeds and rosemary extracts on oxidative stability of bulk and emulsified lipid substrates. **Food Chemistry**. 104: 317-323.
- Sasaki, K., Alamed, J., Weiss, J., Villeneuve, P., Giraldo, L.J.L., Lecomte, J., Figueroa-Espinoza, M. and Decker, E.A. 2010. Relationship between the physical properties of chlorogenic acid esters and their ability to inhibit lipid oxidation in oil-in-water emulsions. **Food Chemistry**. 118: 830-835.
- Serra, T. and Casamitjana, X. 1998. Effect of shear and volume fraction on break-up of fractal aggregates in shear flow. **American Institute of Chemical Engineers Journal**. 44; 1724-1730.
- Sestili, P., Guidarelli, A., Dacha, M. and Cantoni, O. 1998. Quercetin prevents DNA single strand breakage and cytotoxicity caused by *tert*-butylhydroperoxide: free radical scavenging versus iron chelating mechanism. **Free Radical Biology and Medicine**. 25; 196-200.
- Shahidi, F. and Wanasundara, U.N. 2007. Methods for Measuring Oxidative Rancidity in Fats and Oils. *In* Food Lipids Chemistry, Nutrition, and Biotechnology. Third Edition. (Akoh, C.C. and Min, D.B.(Editors)). Taylor and Francis. 928 pp.
- Sherman, P. (1968). Emulsion Science. Academic Press. London. UK.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. and Lamuela-Raventos, R.M. 1999. Analysis of total phenol and other oxidation substrates and antioxidants by mean of Folin-Ciocalteu Reagent. **Methods in Enzymology**. 299: 152-177.
- Soharb, M.H., Chowghury, R., Hasan, C.M. and Rashid, M.A. 2004. Chemotaxonomic significance of polyoxygenated flavonoids from the leaves of *Micromelum minutum*. **Biochemical Systematics and Ecology**. 32: 829-831.
- St. Angelo, A.J. and Vercellotti, J.R. 1989. Phospholipids and fatty acid esters of alcohols. *In* Food Emulsifier Chemistry, Technology, Functional Properties and Applications (Charalambous, G. and Doxastakis, G.) Elsevier. Amsterdam.

- Toivonen, P.M.A. and Brummell, D.A. 2008. Biochemical bases of appearance and texture changes in fresh-cut fruit and vegetables. **Postharvest Biology and Technology**. 48: 1-14.
- Tsimidou, M. and Biliaderis, C.G. 1997. Kinetic studies of saffron (*Crocus sativus* L.) Quality deterioration. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 45: 2890-2898.
- Velasco, J. Dobarganes, C., Holgado, F. and Mrquez-Ruiz, G. 2009. A follow-up oxidation study in dried microencapsulated oils under the accelerated conditions of the Rancimat test. **Food Research International**. 42: 56-62.
- Van Acker, S.A.B.E., van Balen, G.P., van den Berg D.J., Bast, A. and van der Vijgh, W.J.F. 1998. Influence of iron chelation on the antioxidant activity of flavonoids. **Biochem Pharmacology**. 56:935-43.
- van Valkenburg, J.L.C.H. and Bunyapraphatsara, N. (Editors.) 2001. Plant resources of South-East Asia No.12(2) : Medicinal and poisonous plants 2. Backhuys Publishers. Leiden. the Netherlands. 782 pp.
- Wang, G. and Wang, T. 2008. Oxidative stability of egg and soy-lecetin as affected by transition metal ions and pH in emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56: 11424-11431.
- Weiss, J. 1999. Effect of Mass Transport Processes on Physicochemical Properties of Surfactant Stabilized Emulsions. Department of Food Science. University of Massachusetts. Amherst. 280pp.
- Weiss, J. 2001. Emulsion Stability Determination. *In* Current Protocols in Food Analytical Chemistry. John Wileys and sons. D3.4-D3.4.17.
- Williams, R. and Elliot, M. 1997. Antioxidants in grapes and wine: Chemistry and health effects. *In* Natural antioxidants: Chemistry, health effects and applications (Shahidi F. (Editor)). Illinois: American Oil Chemical Society Press. pp. 150-173.
- Yadav, S. K. and Sehgal, S. 1997. Effect of home processing and storage on ascorbic acid and β -carotene content of bathua (*Chenopodium album*) and fenugreek (*Trigonella foenum graecum*) leaves. **Plant Foods for Human Nutrition**. 50: 239-247.
- Yoshida H. 1993. Influence of fatty acids of different unsaturation in the oxidation of purified vegetable oils during microwave irradiation. **Journal of the Science of Food and Agriculture**. 62: 41-47.
- Yoshida, T., Chou, T. Nitta, A. and Okuda, T. 1991. Tannins and related polyphenols of theaceous plants. IV. monomeric and dimeric hydrolyzable tannins having a dilactonized valoneoyl group from *Schima wallichii* KORTH. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. 39(9): 2247-2251.

Zhou, K. and Yu, L. 2004. Antioxidant properties of bran extracts from Trego wheat grown at different location. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 52: 1112-1117.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารละลายมาตรฐานและรีเอเจนต์ทดสอบ

1. สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

ชั่งกรดแกลลิก 0.02 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่มีความเข้มข้น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2. สารละลายมาตรฐาน 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox)

ชั่ง Trolox 0.025 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน Trolox ที่มีความเข้มข้น 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่งโซเดียมคาร์บอเนต 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์

4. สารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH)

ชั่ง DPPH 0.0078 กรัม ละลายในเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์

5. สารละลาย 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS)

ชั่ง ABTS 0.2742 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำสารละลาย ABTS ที่ได้มาเติมแมงกานีสไดออกไซด์ 2 กรัม คนผสมให้เข้ากันด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 30 นาทีในที่มีด จากนั้นกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 แล้วกรองซ้ำอีกครั้งด้วยตัวกรองขนาด 0.2 ไมครอน จะได้สารละลาย ABTS⁺ ที่มีความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์

ก่อนทำการวิเคราะห์ให้เจือจางสารละลาย ABTS⁺ ด้วยน้ำกลั่น ให้มีค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร อยู่ในช่วง 0.700 ± 0.020 และควรเตรียมสารละลาย ABTS⁺ ใหม่ ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

6. สารละลาย Ferric reducing/antioxidant power (FRAP)

1) เตรียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ (pH= 3.6)

ชั่งโซเดียมอะซิเตต 3.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น เติมกรดอะซิติกเข้มข้น (glacial acetic acid) 16 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1 ลิตร

2) เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

ปิเปตกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 3.31 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

3) เตรียมสารละลาย FRAP

ชั่งเฟอร์ริกคลอไรด์ 0.1082 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง 2,4,6-tripyridyl-s-triazine (TPTZ) 0.0624 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ 20 มิลลิลิตร นำสารละลายทั้งสองมาผสมกับอะซิเตตบัฟเฟอร์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (หรือในอัตราส่วน 1:1:10) จะได้สารละลาย FRAP ปริมาตร 240 มิลลิลิตร ควรเตรียมสารละลาย FRAP ใหม่ทุกครั้งที่ทำการวิเคราะห์

7. สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์

เตรียม สารละลาย ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 75 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 ชั่ง $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 17.12 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นชั่ง KH_2PO_4 5.1034 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร นำสารละลาย $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ มา 802 มิลลิลิตร ผสมกับ สารละลายเตรียม KH_2PO_4 198 มิลลิลิตร คนผสมให้เข้ากัน เก็บที่ อุณหภูมิ แช่เย็น

8. สารละลายฟลูออเรสซิน ในสารละลายบัฟเฟอร์

Stock solution ชั่ง ฟลูออเรสซิน 0.1881 กรัม ละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปรับปริมาตรให้ครบ 50 มิลลิลิตร ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ได้ Stock solution ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ เก็บในขวดสีชาที่ห่อด้วย อลูมิเนียมฟอยล์ ที่ -20 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 เดือน

Working solution ทำการเจือจาง stock solution ให้มีความเข้มข้น 10 นาโนโมลาร์ ด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปริมาตร 250 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่ห่อด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 สัปดาห์

9. สารละลาย AAPH (2,2'-azobis-2-methyl-propanimidamide, dihydrochloride)

ชั่ง AAPH 0.414 กรัม ละลายด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ โดยเก็บไว้ในอ่างน้ำแข็ง ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้งานและใช้ภายใน 8 ชั่วโมง

10. การทดสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชันของไขมัน

1) เตรียมอิมัลชันของกรดไขมันลิโนเลอิก 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งกรดไขมันลิโนเลอิก 0.5 กรัม เติม Tween 40 จำนวน 0.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2) เตรียมสารละลาย TCA-TBA-HCl

ชั่งกรดไตรคลอโรอะซีติก (trichloroacetic acid, TCA) 15 กรัม และกรดไทโอบาร์บิทริก (thiobarbituric acid, TBA) 0.375 กรัม ละลายด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.25 โมลาร์ จากนั้นผสมสารละลายทั้งสองให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน นำมากรองด้วย กระดาษกรองเบอร์ 4 จะได้สารละลาย TCA-TBA-HCl

11. การวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ ตามวิธี Cd8-53 (AOAC, 2003)

1) การเตรียมสารละลายกรดอะซีติกและคลอโรฟอร์ม(อัตราส่วน 3:2)

เติมกรดอะซีติกเข้มข้นลงในคลอโรฟอร์มในอัตราส่วน 3:2(ปริมาตร/ปริมาตร) ผสมให้เข้ากันและเก็บในขวดสีชา ก่อนนำไปวิเคราะห์

2) การเตรียมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว

ชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์(KI) 5 กรัมละลายด้วยน้ำกลั่น(อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส) 3 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา และทำการไตเตรต Blank ก่อนการวิเคราะห์

3) การเตรียมสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.01 และ 0.001 นอร์มอล

เตรียม Stock โซเดียมไทโอซัลเฟต 0.1 นอร์มอล โดยชั่งโซเดียมไทโอซัลเฟต 24.9 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร จากนั้นปิเปต Stock โซเดียมไทโอซัลเฟตจำนวน 100 มิลลิลิตรปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 1 ลิตรได้เป็นสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.01 นอร์มอล

ส่วนสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.001 นอร์มอล เตรียมโดยเจือจาง Stock โซเดียมไทโอซัลเฟตด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:100 แล้วปรับปริมาตรรวมด้วยขวดวัดปริมาตร

สารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตทุกความเข้มข้นต้องนำไปไตเตรตหาความเข้มข้นกับสารมาตรฐานโพแทสเซียมไดโครเมต (Potassium dichromate) ก่อนนำไปวิเคราะห์ค่าเปอร์ออกไซด์ โดยมีรายละเอียด ดังนี้ ซึ่งโพแทสเซียมไดโครเมตที่อบแล้ว (อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง) จำนวน 0.001-0.002 กรัม เติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตรและกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์อิ่มตัว 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 5 นาทีในที่มืด ได้เป็นสารละลายสีเหลือง เมื่อครบกำหนดเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร แล้วไตเตรตกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำแบ่ง 1 เปอร์เซ็นต์ 0.1 มิลลิลิตร สารละลายจะมีสีน้ำเงิน ไตเตรตต่อไปจนสีน้ำเงินจางหายไปจนหมด จดปริมาตรที่ใช้ นำไปคำนวณความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตตามสมการ

$$\text{ความเข้มข้น (N)} = 20.394 \times \frac{\text{น้ำหนักสารมาตรฐาน}}{\text{ปริมาตรที่ใช้ (มิลลิลิตร)}}$$

4) การเตรียมน้ำแบ่ง 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งแบ่งจำนวน 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น (อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำไปต้มให้เดือดประมาณ 3 นาทีหรือจนกว่าน้ำแบ่งจะใส ทิ้งให้เย็นก่อนนำไปใช้ สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้นานประมาณ 2 สัปดาห์

12. การเตรียมนรีเอเจนต์ p-Anisidine

ชั่ง p-Anisidine จำนวน 0.25 กรัม ละลายด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ได้เป็นรีเอเจนต์ p-Anisidine ความเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกว่าจะทำการวิเคราะห์ โดยรีเอเจนต์นี้จะแข็งตัวเมื่อเก็บที่อุณหภูมิต่ำและควรเตรียมนรีเอเจนต์ใหม่เมื่อพบการเปลี่ยนสี

13. การเตรียมนฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ (พีเอช 5.4)

(A) เตรียมสารละลาย stock $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 0.5 โมลาร์ โดยชั่ง $K_2HPO_4 \cdot 3H_2O$ 114.11 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น (มีค่า พีเอช เริ่มต้นประมาณ 9.1)

(B) เตรียมสารละลาย stock KH_2PO_4 0.5 โมลาร์ โดยชั่ง KH_2PO_4 68.05 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น (มีค่า พีเอช เริ่มต้นประมาณ 4.2)

ผสมสารละลาย (A) 8 มิลลิลิตรกับสารละลาย (B) 92 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้เป็น 5.4 เติมนโซเดียมเอไซด์ (sodium azide) 0.2 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 500 มิลลิลิตร ได้เป็นฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมลาร์ โดยในขั้นตอนการเตรียมนรีเอเจนต์ต้องเจือจางฟอสเฟตบัฟเฟอร์ด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1